

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

KATIELLE ROSALVA VONCIK CÓRDOVA

**BARRAS DE CEREAIS COM *Agaricus brasiliensis* E MINERAIS: ELABORAÇÃO,
CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E SENSORIAL**

CURITIBA
2012

KATIELLE ROSALVA VONCIK CÓRDOVA

**BARRAS DE CEREAIS COM *Agaricus brasiliensis* E MINERAIS: ELABORAÇÃO,
CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E SENSORIAL**

Tese apresentada ao Programa Pós-Graduação
em Engenharia de Alimentos, Setor de
Tecnologia, Universidade Federal do Paraná,
como requisito parcial à obtenção do título de
Doutora em Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Nina Waszczynskyj

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Herta Stutz Dalla Santa

CURITIBA
2012

Córdova, Katielle Rosalva Voncik
Barras de cereais com *Agaricus brasiliensis* e minerais:
elaboração, caracterização física, química e sensorial / Katielle Rosalva
Voncik Córdova – Curitiba, 2012.
172 f. il.; tabs.

Orientadora: Profª. Drª. Nina Waszczynskyj
Co-orientadora: Profª. Drª. Herta Stutz Dalla Santa
Tese (Doutorado) – Tese apresentada como requisito parcial a obtenção
do grau de Doutora em Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-
Graduação em Engenharia de Alimentos, Setor de Tecnologia, Universidade
Federal do Paraná.

Inclui Bibliografia

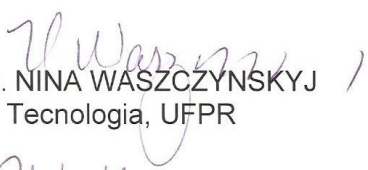
1. Cereais. 2. Trigo. 3. Tecnologia de alimento. I. Waszczynskyj, Nina.
II. Título. III. Universidade Federal do Paraná.

CDD 664.7

KATIELLE ROSALVA VONCIK CORDOVA

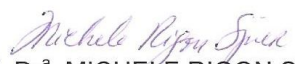
**BARRAS DE CEREAIS COM *Agaricus brasiliensis* E MINERAIS:
ELABORAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E
SENSORIAL**

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de
Doutor no Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de
Alimentos, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão
formada pelos professores:


Orientadora: Prof^a. Dr^a. NINA WASZCZYNSKYJ
Setor de Tecnologia, UFPR


Prof^a. Dr^a. ROBERTA LETÍCIA KRUGER
Campus Universitário Cedeteg, UNICENTRO


Prof. Dr. JOSÉ DOMINGOS FONTANA
Unidade Curitiba, UTFPR


Prof^a. Dr^a. MICHELE RIGON SPIER
Setor de Tecnologia, UFPR


Prof^a. Dr^a. MARIA LUCIA MASSON
Setor de Tecnologia, UFPR

Curitiba, 25 de outubro de 2012.

***Aos meus amores: Marcel, Maria Luiza e João Pedro.
E a minha querida e amada mãe Ana Maria.***

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por estar ao meu lado todos os momentos de minha vida, sempre me guiando e fortalecendo.

Ao meu amado marido **Marcel**, pelo amor incondicional, carinho, incentivo, paciência, colaboração e compreensão em todos os momentos. Obrigada por não me deixar desistir todas as vezes que isso foi cogitado. Obrigada por me cobrar para que eu concluísse mais esta etapa. Amo você muito, bastante, “bastantão” e para sempre.

Aos meus amados filhos **Maria Luiza** e **João Pedro** razões do meu viver. Obrigada pela paciência de vocês, pois muito do tempo destinado a este trabalho era por direito de vocês. Obrigada pelo maior título da minha vida, o de “mamãe”. É por vocês que eu me levanto todos os dias e digo “Obrigada Senhor por mais um dia!”.

À minha adorada mãe **Ana Maria**, por seu amor e apoio em todos os momentos da minha vida, e pelo incentivo em avançar sempre na vida e na carreira acadêmica. Obrigada por me ensinar que na vida o que mais devemos ter apreço são os valores e a nossa família. Amo você de forma imensurável.

À minha amada irmã **Ketilyn**, pelo amor, companheirismo e auxílio nas traduções, e principalmente pelo “presentinho” **Maria Eduarda**, a Duda, por quem tenho um amor maternal. Amo, amo!

Aos meus “fofos” sobrinhos **Augusto** e **Isabella** que alegram minha vida com seus sorrisos sinceros. A Dinda ama vocês Guto e Bella.

Ao meu querido pai **Pedro**, à minha avó/“baptia” **Rosália**, à minha tia/madrinha **Lurdes** que deixaram o meu convívio durante o período deste curso.

À minha querida orientadora Profª Drª. **Nina Waszczynskyj**, pela amizade, colaboração, auxílio e pelos valiosíssimos conselhos. Obrigada pelo incentivo, compreensão e apoio desde a época do meu Mestrado. Você não foi apenas minha orientadora neste estudo, foi minha Mestra no caminho do aprendizado e do conhecimento.

À minha querida co-orientadora Profª Drª. **Herta Stutz Dalla Santa**, pela amizade, ajuda em todos os momentos, conhecimento, apoio e conselhos. Saiba

que sem você este projeto não teria êxito. Você foi agente de transformação em todo esse processo. Obrigada!

À Universidade Estadual do Centro-Oeste, ao Departamento de Engenharia de Alimentos, a todos os meus queridos colegas docentes, especialmente ao **David Chácon Alvarez, Cristiane Kopf, Karina Czaikoski, Viviani Borsato Botelho, Keren Hapuque Pinheiro, Michele Cristiane Mesomo, Maurício Rigo, José Raniere Mazile Vidal Bezerra e Bogdan Demczuk Júnior**, pelo apoio e amizade. E, em especial, ao **Osmar Roberto Dalla Santa**, por toda ajuda, incentivo, amizade e também pelas análises microbiológicas.

Aos professores Dr. **Georges Kaskantzis Neto** e Dr^a. **Liane Maria Vargas Barboza**, obrigada pela ajuda e pelas sugestões no exame de qualificação.

À professora Dr^a. **Roberta Letícia Krüger**, por estar sempre pronta a ajudar, principalmente com as análises estatísticas. Também lhe agradeço por aceitar compor a banca de defesa tão prontamente e pelas sugestões para melhoria deste trabalho.

Ao professor Dr. **Vanderlei Aparecido de Lima**, obrigada pela ajuda, apoio, paciência, conselhos, auxílio com os delineamentos experimentais e por sua amizade.

Ao professor Dr. **Najeh Maissar Khalil**, pela ajuda, conselhos, utilização dos equipamentos do Laboratório de Nanotecnologia e por aceitar compor a banca de pré-defesa.

A pesquisadora Dr^a. **Cristiane Vieira Helm** por aceitar compor a banca de pré-defesa.

À professora Dr^a. **Sueli Pércio Quináia** pelo auxílio nas análises de minerais.

À professora Dr^a. **Maria Lucia Masson**, por aceitar compor a banca de defesa e pelas sugestões e conselhos que possibilitaram melhorias neste trabalho, e ainda, por toda ajuda nos momentos de maior pesar.

Aos professores Dr^a. **Michele Rigon Spier**, Dr. **José Domingos Fontana** e Dr. **Renato João Sossela de Freitas**, por aceitarem compor a banca de defesa e pelas sugestões que possibilitaram melhorias neste trabalho.

Ao Prof. Dr. **Paulo Rogério Pinto Rodrigues**, pelo apoio e auxílio junto ao processo de registro de patente.

Ao Prof. Dr. **Juliano Tadeu Vilela Resende** e à Ms. **Letícia Kurchaidt Pinheiro Camargo**, por abrirem as portas do Laboratório de Fisiologia Vegetal para a realização de algumas análises.

À Universidade Federal do Paraná, ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, aos professores, obrigada por tudo e também pelo prazo de prorrogação concedido, e, em especial, ao **Paulo Roberto Krainski**, pela colaboração e amizade.

À **Elisa Perez**, por sua amizade, confiança e todo auxílio prestado. Saiba que você é muito especial para mim.

Aos meus queridos alunos, pela paciência e incentivo. Em especial, à **Priscila Rossito**, meu braço direito para todas as ocasiões, foi um prazer ser sua “mãe postiça”.

Aos meus colegas de doutorado, pelo companheirismo e amizade, especialmente às minhas grandes amigas **Suellen Jensen**, **Silvana Licodiedoff** e **Maike Masiero Montanhini**. Obrigada pela ajuda, carinho, e muitas vezes pelo suporte emocional, o famoso “ombro amigo”.

Ao Ms. **Miguel Kalwa** e ao Eng. **Carlos Wouk**, dos laboratórios do Departamento de Química da UNICENTRO, obrigada pelos miligramas de reagentes que faltaram na última hora e pelo socorro prestado em todos os momentos necessários.

À querida Dr^a. **Tânia Cristina Gorgo** obrigada pelas sugestões e auxílio com as dosagens dos minerais.

À Cooperativa Agrária Agroindustrial, pela doação dos grãos de trigo.

Ao apoio da CAPES e da UNICENTRO na realização da presente pesquisa.

Aos estagiários de todos os laboratórios utilizados para a realização deste projeto.

A todas as pessoas que me cobraram com a frase “Quando você vai terminar?”, mesmo sem querer vocês me deram estímulo para continuar.

E a todos aqueles que de alguma forma me ajudaram nesta jornada, muito obrigada!

***“Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo,
qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim.”***

Chico Xavier

RESUMO

O cogumelo *Agaricus brasiliensis* apresenta atividade antibactericida, antioxidante, antidiabética, antiangiogênica e anticancerígena. A adição de biomassa de fungos em produtos alimentícios pode elevar o nível proteico e de minerais desses alimentos. O objetivo desse trabalho foi desenvolver barras de cereais contendo grãos de trigo fermentado com *Agaricus brasiliensis* e minerais. O cultivo sólido de *A. brasiliensis* em grãos de trigo resultou numa biomassa estimada de $0,212 \pm 0,005$ g.g⁻¹ de trigo e $1,42 \pm 0,03$ mg de ergosterol por grama de trigo. O bioacúmulo de minerais na fermentação sólida do trigo com *A. brasiliensis* foi: 37,51% de Zn, 35,52% de Cu, 20,05 de Se e 38,61% de Ca, em relação a fermentação controle, isto é, sem minerais. O trigo fermentado com *A. brasiliensis* apresentou teores dos minerais estudados superiores aos do trigo in natura, ou seja, 52,50% a mais de Zn, 58,15% a mais de Cu e 37,57% a mais de Ca. O trigo fermentado apresentou doze vezes mais Se que o trigo controle. O teor médio de minerais das barras de cereais foi de 2,05 mg.(100. g⁻¹) para o zinco, 0,65 mg.(100. g⁻¹) para o cobre, 0,10 mg.(100. g⁻¹) para o selênio e 18,16 mg.(100. g⁻¹) para o cálcio. As barras de cereais foram elaboradas por delineamento para mistura simplex-centroide para três variáveis: aveia, gergelim e trigo fermentado com *A. brasiliensis* e minerais. O teor médio de β -glucanas das barras de cereais foi de 2,56 g.(100. g⁻¹). As barras de cereais apresentaram capacidade antioxidante média de 34,82 mg CAET.(100. g⁻¹). O teor médio de fenólicos foi de 7470 mg EAG.(100. g⁻¹) nas barras de cereais. Observou-se diminuição da luminosidade quando foi adicionado o trigo fermentado. A variação de coloração (ΔE) foi maior para a amostra 6 ($16,69 \pm 0,18$). A composição centesimal média das barras de cereais com adição do trigo fermentado e mineral, em base seca, foi de: 10,34% de proteínas, 5,93 % de lipídios, 8,28% de fibras, 1,19% de resíduo mineral fixo e 64,35% de carboidratos. As barras de cereais elaboradas podem ser classificadas como ricas em fibras alimentares, por apresentarem teor superior a 3% de fibras. Os teores de açúcares totais e redutores foram 26,27% e 13,54%, respectivamente. O valor calórico médio foi de 86,56 kcal por unidade de 25 g de barra de cereais. A média da atividade de água, das barras de cereais foi de 0,553 o que assegura a estabilidade microbiológica, devido a baixa *Aw*. Com relação às características microbiológicas, as barras de cereais apresentam-se seguras para o consumo humano. No teste de preferência a formulação com maior quantidade de trigo fermentado (20%) foi a preferida pelos julgadores obtendo um valor de 7,20. No teste de perfil de atitude, 70% dos julgadores que degustaram a barra de cereais com 20% de trigo fermentado demonstraram interesse de adquiri-la para consumo habitual. No teste da Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) para os atributos avaliados não apresentaram diferença estatística ao nível de $p < 0,05$, confirmado pelo perfil de atributos onde as médias por atributo variaram de 5,43 a 5,93. As superfícies de respostas geradas por modelo cúbico para os atributos evidenciaram as semelhanças entre as formulações adicionadas de trigo fermentado e o controle, indicando que esses atributos não são influenciados pela adição do cereal. Assim, a adição de trigo fermentado com *A. brasiliensis* e minerais em barras de cereais pode torná-las mais saudáveis, devido às propriedades nutritivas e compostos bioativos desse micro-organismo, mantendo, ainda, as características sensoriais.

Palavras-chave: ergosterol, beta-glucanas, antioxidante, análise sensorial.

ABSTRACT

The *Agaricus brasiliensis* show antibacterial activity, antioxidant, antidiabetic, antiangiogenic and anticancer. The addition of fungal biomass in food products can raise the level of protein and minerals such foods. The aim of this study was to develop cereal bars containing wheat grains fermented with *A. brasiliensis* and minerals. The solid cultivation of *A. brasiliensis* in wheat grain resulted in a biomass estimate of 0.212 ± 0.005 g.g⁻¹ of wheat and 1.42 ± 0.03 mg of ergosterol per gram of wheat. The bioaccumulation of minerals in the fermentation of wheat with *A. brasiliensis* was: 37.51% Zn, 35.52% Cu, Se 20.05% Ca and 38.61, compared to the control fermentation, that is, without minerals. The fermented wheat with *A. brasiliensis* had studied mineral contents higher than those of fresh wheat, or more than 52.50% Zn, 58.15% more of Cu and 37.57% more of Ca fermented wheat The formulated twelve times more Se that the control wheat. The average content of minerals of the cereal bars was 2.05 mg. (100. g⁻¹) to zinc 0.65 mg. (100. g⁻¹) for copper, 0.10 mg. (100. g⁻¹) for selenium and 18.16 mg. (100. g⁻¹) for calcium. The cereal bars were prepared by mixing design for simplex-centroid for three variables: oats, sesame and wheat fermented with *A. brasiliensis* and minerals. The average content of β -glucan from cereal bars was 2.56 g. (100. g⁻¹). The cereal bars antioxidant showed an average of 34.82 mg CAET. (100. g⁻¹). The average content of phenolic EAG was 7470 mg. (100. g⁻¹) in the cereal bars. Observed decrease in brightness when it was added to fermented wheat. The color variation (ΔE) was higher for sample 6 (16.69 ± 0.18). The average chemical composition of cereal bars with the addition of fermented wheat and mineral, on a dry basis, was: 10.34% protein, 5.93% fat, 8.28% fiber, 1.19% residual fixed mineral and 64.35% carbohydrates. The cereal bars can be classified as prepared rich in dietary fibers, for presenting fiber content above 3%. The levels of total and reducing sugars were 26.27% and 13.54%, respectively. The average caloric value was 86.56 kcal per unit of 25 g cereal bar. The average water activity of the cereal bars was 0.553 which ensures the microbiological stability, due to low *Aw*. Regarding microbiological characteristics, the cereal bars are within the standards set by legislation and have to be safe for human consumption. The preference test, the formulation preferably greater amount of fermented wheat (20%) was preferred by the panelists giving a value of 7.20. In profile test attitude, 70% of judges who tasted the cereal bar with 20% fermented wheat showed interest in acquiring it for regular consumption. In the test of Quantitative Descriptive Analysis (QDA) for the attributes evaluated showed no statistical difference at $p < 0.05$, confirmed by the profile attribute by attribute where the averages were between 5.43 and 5.93. The response surfaces generated by cubic model for the attributes highlighted the similarities between the formulations added fermented wheat and control, indicating that these attributes are not influenced by the addition of cereal. Thus, the addition of fermented wheat with *A. brasiliensis* and minerals in cereal bars can make them healthier due to the nutritional properties and bioactive compounds of this micro-organism, maintaining also the sensory characteristics.

Key-words: ergosterol, beta-glucans, antioxidant, sensory attributes

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
1.1 OBJETIVOS	23
1.1.1 Objetivo geral	23
1.1.2 Objetivos específicos.....	23
2 REVISÃO DE LITERATURA	24
2.1 COGUMELOS	24
2.1.1 <i>Agaricus brasiliensis</i>	25
2.1.2 Enriquecimento de alimentos com fungos.....	28
2.2 PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DO <i>Agaricus brasiliensis</i>	29
2.2.1 Efeito hipocolesterolêmico.....	30
2.2.2 Efeito antidiabético	30
2.2.3 Atividade antioxidante	31
2.2.3.1 <i>Antioxidantes na dieta</i>	32
2.3 COMPOSTOS BIOATIVOS DO <i>Agaricus brasiliensis</i>	33
2.3.1 Ergosterol	33
2.3.2 Polissacarídeos	35
2.3.2.1 <i>Beta-glucanas</i>	36
2.4 FERMENTAÇÃO SUBMERSA E FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO.....	38
2.6 MINERAIS	42
2.6.1 Zinco.....	43
2.6.2 Cobre.....	44
2.6.3 Selênio	44
2.6.4 Cálcio	45
2.7 BARRAS DE CEREAIS	46
2.8 ANÁLISE SENSORIAL.....	48
2.9 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL	52
3 MATERIAL E MÉTODOS	55
3.1 MATERIAL	55
3.2 PREPARO DO PRÉ-INÓCULO PARA O CULTIVO SUBMERSO	55
3.3 PREPARO DO INÓCULO PARA O CULTIVO SUBMERSO.....	56
3.3.1 Enriquecimento com minerais – cobre, zinco, cálcio e selênio.....	56

3.4 CULTIVO SUBMERSO DE <i>Agaricus brasiliensis</i>	58
3.4.1 Extração de biomassa de <i>Agaricus brasiliensis</i>	58
3.4.2 Extração de exopolissacarídeo (EPS)	59
3.5 CULTIVO SÓLIDO DE <i>Agaricus brasiliensis</i> EM GRÃOS DE TRIGO	59
3.5.1 Preparo do substrato	59
3.5.2 Inoculação do substrato sólido	60
3.5.3 Trigo fermentado com <i>A. brasiliensis</i> por cultivo sólido e enriquecido com minerais	60
3.6 DOSAGEM DE ERGOSTEROL	60
3.8 DOSAGEM DE BETA-GLUCANAS	64
3.9 DETERMINAÇÃO DE ANTIOXIDANTES	65
3.9.1 Extração etanólica	65
3.9.2 Determinação do resíduo seco	65
3.9.3 Capacidade antioxidante total	66
3.9.4 Determinação de compostos fenólicos totais	66
3.10 DETERMINAÇÃO DE MINERAIS	67
3.11 DETERMINAÇÃO DA COR	68
3.12 ANÁLISES FÍSICAS, QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS	68
3.13 ANÁLISE SENSORIAL	69
3.13.1 Questões éticas	69
3.13.2 Testes sensoriais	70
3.14 ANÁLISE ESTATÍSTICA	72
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
4.1 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA	73
4.2 OTIMIZAÇÃO DA BIOMASSA DE <i>A. brasiliensis</i> EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE MINERAIS	75
4.2.1 Determinação de biomassa e EPS de <i>Agaricus brasiliensis</i> dos cultivos submersos	75
4.2.2 Determinação da biomassa de <i>Agaricus brasiliensis</i> no cultivo sólido por dosagem de ergosterol	91
4.3 DETERMINAÇÃO DE BETA-GLUCANAS	94
4.6 AVALIAÇÃO ANTIOXIDANTE	97
4.7 ANÁLISE DE MINERAIS	102
4.6 ANÁLISE DE COR	106

4.7 ANÁLISES FÍSICAS, QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DAS BARRAS DE CEREAIS	109
4.7.1 Análises físicas e químicas	109
4.7.2 Análises microbiológicas	112
4.9 ANÁLISE SENSORIAL DAS BARRAS DE CEREAIS	113
4.9.2 Perfil de Atributos	118
4.9.3 Perfil de Atitude	120
4.9.4 Análise Descritiva Quantitativa (ADQ).....	122
5 CONCLUSÕES	135
REFERÊNCIAS.....	138
APÊNDICE A	169
APÊNDICE B	170
APÊNDICE C	171
ANEXO A	172

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO CORPO DE FRUTIFICAÇÃO DE <i>Agaricus brasiliensis</i>	27
TABELA 2	COMPARAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DA FERMENTAÇÃO NO ESTADO SÓLIDO E DA FERMENTAÇÃO SUBMERSA	40
TABELA 3	DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL UTILIZADO PARA A ADIÇÃO DE MINERAIS NOS CULTIVOS SUBMERSOS COM <i>Agaricus brasiliensis</i>	57
TABELA 4	FAIXAS ESTUDADAS DOS MINERAIS ADICIONADOS NOS CULTIVOS SUBMERSOS COM <i>Agaricus brasiliensis</i>	58
TABELA 5	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL PARA MISTURAS <i>SIMPLEX-CENTROIDE</i> PARA AS TRÊS VARIÁVEIS AVEIA, GERGELIM E TRIGO FERMENTADO COM <i>Agaricus brasiliensis</i> E MINERAIS	62
TABELA 6	PARÂMETROS INSTRUMENTAIS PARA DETERMINAÇÃO DE METAIS POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMA	67
TABELA 7	CARACTERIZAÇÃO DO TRIGO <i>IN NATURA</i> E DO TRIGO FERMENTADO COM <i>Agaricus brasiliensis</i> ADICIONADO DE MINERAIS	73
TABELA 8	DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL PARA ESTUDO DA FORMAÇÃO DE BIOMASSA DE <i>Agaricus brasiliensis</i> OBTIDA POR CULTIVO SUBMERSO COM ADIÇÃO DE COM ZINCO E COBRE	75
TABELA 9	ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA BIOMASSA DO PRIMEIRO CULTIVO SUBMERSO COM <i>Agaricus brasiliensis</i> EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE ZINCO E COBRE	77
TABELA 10	ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA PRODUÇÃO DE EPS DE <i>Agaricus brasiliensis</i> EM CULTIVO SUBMERSO EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE ZINCO E COBRE	81
TABELA 11	DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL PARA ESTUDO DA FORMAÇÃO DE BIOMASSA DE <i>Agaricus brasiliensis</i> OBTIDA POR CULTIVO SUBMERSO COM ADIÇÃO DE SELÊNIO E CÁLCIO	83
TABELA 12	ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE <i>Agaricus brasiliensis</i> EM CULTIVO SUBMERSO EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE SELÊNIO E CÁLCIO	85

TABELA 13	ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO EPS DE <i>Agaricus brasiliensis</i> EM CULTIVO SUBMERSO EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE SELÊNIO E CÁLCIO	88
TABELA 14	BIOMASSA E EPS OBTIDOS EM CULTIVO SUBMERSO DE <i>Agaricus brasiliensis</i> COM ADIÇÃO DE SELÊNIO, CÁLCIO, ZINCO E COBRE	91
TABELA 15	QUANTIFICAÇÃO DE ERGOSTEROL TRIGO <i>IN NATURA</i> E TRIGO FERMENTADO COM <i>Agaricus brasiliensis</i> E ADIÇÃO DE MINERAIS NO INÓCULO E BIOMASSA ESTIMADA	93
TABELA 16	BIOACÚMULO DE MINERAIS NOS CULTIVOS SÓLIDOS COM <i>Agaricus brasiliensis</i>	103
TABELA 17	TEOR DE MINERAIS DO TRIGO <i>IN NATURA</i> , TRIGO FERMENTADO COM <i>Agaricus brasiliensis</i> E DAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS	104
TABELA 18	PARÂMETROS OBTIDOS NA ANÁLISE DE VARIAÇÃO DE COR DAS BARRAS DE CEREAIS COM <i>Agaricus brasiliensis</i> E MINERAIS EM RELAÇÃO À AMOSTRA CONTROLE	106
TABELA 19	CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E QUÍMICA DAS BARRAS DE CEREAIS	110
TABELA 20	RESULTADOS DAS ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS REALIZADAS NAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS	113
TABELA 21	RESULTADOS DA ANÁLISE DE PREFERÊNCIA PARA AS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS	115
TABELA 22	MÉDIAS DAS NOTAS ATRIBUÍDAS NOS TESTES SENSORIAL DE PERFIL DE ATRIBUTOS DAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS	119
TABELA 23	DESCRIPTORIOS SENSORIAIS E MATERIAIS DE REFERÊNCIA UTILIZADOS NA ADQ	123
TABELA 24	RESULTADOS DA ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA DOS ATRIBUTOS BRILHO, COMPACTAÇÃO, AROMA DE COCO E GOSTO DOCE PARA AS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS ...	124
TABELA 25	RESULTADOS DA ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA DOS ATRIBUTOS SABOR RESIDUAL, CROCÂNCIA, FIRMEZA E MASTIGABILIDADE PARA AS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS.....	124
TABELA 26	EQUAÇÕES E COEFICIENTES DE DETERMINAÇÃO DAS MODELAGENS OBTIDAS PELA METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTAS PARA OS DESCRIPTORES DA ADQ DAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS	126

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1	CORPO DE FRUTIFICAÇÃO DE <i>Agaricus brasiliensis</i>	26
FIGURA 2	ESTRUTURA QUÍMICA DOS ESTERÓIS	34
FIGURA 3	LOCALIZAÇÃO DA B –GLUCANA NA PAREDE CELULAR DE COGUMELOS (a); ESTRUTURA DA (1→3)-(1→6)-B-D-GLUCANA DE COGUMELOS (b)	38
FIGURA 4	FOTOGRAFIAS DE FRAGMENTOS DAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS DE ACORDO COM O DELINEAMENTO <i>SIMPLEX</i> -CENTROIDE	63
FIGURA 5	DIAGRAMA DE PARETO DOS EFEITOS PADRÕES PARA PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE <i>Agaricus brasiliensis</i> EM CULTIVO SUBMERSO EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE ZINCO E COBRE	77
FIGURA 6	SUPERFÍCIE DE RESPOSTA QUADRÁTICA DA PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE <i>Agaricus brasiliensis</i> EM CULTIVO SUBMERSO EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE ZINCO E COBRE	78
FIGURA 7	CURVAS DE NÍVEL DA PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE <i>Agaricus brasiliensis</i> EM CULTIVO SUBMERSO EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE ZINCO E COBRE	79
FIGURA 8	DIAGRAMA DE PARETO DOS EFEITOS PADRÕES PARA PRODUÇÃO DE EPS DE <i>Agaricus brasiliensis</i> EM CULTIVO SUBMERSO EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE ZINCO E COBRE	80
FIGURA 9	SUPERFÍCIE DE RESPOSTA QUADRÁTICA DA PRODUÇÃO DE EPS DE <i>Agaricus brasiliensis</i> EM CULTIVO SUBMERSO EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE ZINCO E COBRE	81
FIGURA 10	CURVAS DE NÍVEL DA PRODUÇÃO DE EPS DE <i>Agaricus brasiliensis</i> EM CULTIVO SUBMERSO EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE ZINCO E COBRE	82
FIGURA 11	DIAGRAMA DE PARETO DOS EFEITOS PADRÕES PARA PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE <i>Agaricus brasiliensis</i> EM CULTIVO SUBMERSO EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE SELÊNIO E CÁLCIO	84
FIGURA 12	SUPERFÍCIE DE RESPOSTA QUADRÁTICA DA PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE <i>Agaricus brasiliensis</i> EM CULTIVO SUBMERSO EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE SELÊNIO E CÁLCIO.....	86
FIGURA 13	CURVAS DE NÍVEL DA PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE <i>Agaricus</i>	

	<i>brasiliensis</i> EM CULTIVO SUBMERSO EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE SELÊNIO E CÁLCIO	87
FIGURA 14	DIAGRAMA DE PARETO DOS EFEITOS PADRÕES PARA PRODUÇÃO DE EPS DE <i>Agaricus brasiliensis</i> EM CULTIVO SUBMERSO EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE SELÊNIO E CÁLCIO	88
FIGURA 15	SUPERFÍCIE DE RESPOSTA QUADRÁTICA DA PRODUÇÃO DE EPS DE <i>Agaricus brasiliensis</i> EM CULTIVO SUBMERSO EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE SELÊNIO E CÁLCIO	89
FIGURA 16	CURVAS DE NÍVEL DA PRODUÇÃO DE EPS DE <i>Agaricus brasiliensis</i> EM CULTIVO SUBMERSO EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE SELÊNIO E CÁLCIO	90
FIGURA 17	TEOR DE BETA-GLUCANAS DE TRIGO IN NATURA, TRIGO FERMENTADO COM <i>Agaricus brasiliensis</i> E DAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS	95
FIGURA 18	RESULTADOS DA AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL DE TRIGO IN NATURA, TRIGO FERMENTADO COM <i>Agaricus brasiliensis</i> E DAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS ..	98
FIGURA 19	RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS DE TRIGO IN NATURA, TRIGO FERMENTADO COM <i>Agaricus brasiliensis</i> E DAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS	101
FIGURA 20	DIAGRAMA TRIANGULAR DA VARIAÇÃO DA COR EM FUNÇÃO DOS COMPONENTES DA MISTURA AVEIA, GERGELIM E TRIGO FERMENTADO COM <i>Agaricus brasiliensis</i> E MINERAIS NAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS	108
FIGURA 21	HISTOGRAMAS DAS MÉDIAS DA ANÁLISE SENSORIAL DE PREFERÊNCIA DAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS	114
FIGURA 22	DIAGRAMA DE PARETO DOS EFEITOS PADRÕES PARA ANÁLISE SENSORIAL DE PREFERÊNCIA DOS JULGADORES PARA AS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS	116
FIGURA 23	DIAGRAMA TRIANGULAR DA ANÁLISE SENSORIAL DE PREFERÊNCIA DAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS PARA MISTURAS CONTENDO AVEIA, GERGELIM E TRIGO FERMENTADO COM <i>Agaricus brasiliensis</i> E MINERAIS	117
FIGURA 24	HISTOGRAMA DE FREQUÊNCIA DA POSSÍVEL AQUISIÇÃO DAS BARRAS DE CEREAIS AVALIADAS	122
FIGURA 25	DIAGRAMA TRIANGULAR DA ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA PARA O ATRIBUTO BRILHO DAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS PARA MISTURAS CONTENDO AVEIA,	

	GERGELIM E TRIGO FERMENTADO COM <i>Agaricus brasiliensis</i> E MINERAIS	127
FIGURA 26	DIAGRAMA TRIANGULAR DA ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA PARA O ATRIBUTO COMPACTAÇÃO DAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS PARA MISTURAS CONTENDO AVEIA, GERGELIM E TRIGO FERMENTADO COM <i>Agaricus brasiliensis</i> E MINERAIS	128
FIGURA 27	DIAGRAMA TRIANGULAR DA ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA PARA O ATRIBUTO AROMA DE COCO DAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS PARA MISTURAS CONTENDO AVEIA, GERGELIM E TRIGO FERMENTADO COM <i>Agaricus brasiliensis</i> E MINERAIS	129
FIGURA 28	DIAGRAMA TRIANGULAR DA ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA PARA O ATRIBUTO GOSTO DOCE DAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS PARA MISTURAS CONTENDO AVEIA, GERGELIM E TRIGO FERMENTADO COM <i>Agaricus brasiliensis</i> E MINERAIS	130
FIGURA 29	DIAGRAMA TRIANGULAR DA ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA PARA O ATRIBUTO SABOR RESIDUAL DE FERMENTADO DAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS PARA MISTURAS CONTENDO AVEIA, GERGELIM E TRIGO FERMENTADO COM <i>Agaricus brasiliensis</i> E MINERAIS	131
FIGURA 30	DIAGRAMA TRIANGULAR DA ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA PARA O ATRIBUTO CROCÂNCIA DAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS PARA MISTURAS CONTENDO AVEIA, GERGELIM E TRIGO FERMENTADO COM <i>Agaricus brasiliensis</i> E MINERAIS	132
FIGURA 31	DIAGRAMA TRIANGULAR DA ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA PARA O ATRIBUTO FIRMEZA DAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS PARA MISTURAS CONTENDO AVEIA, GERGELIM E TRIGO FERMENTADO COM <i>Agaricus brasiliensis</i> E MINERAIS	133
FIGURA 32	DIAGRAMA TRIANGULAR DA ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA PARA O ATRIBUTO MASTIGABILIDADE DAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS PARA MISTURAS CONTENDO AVEIA, GERGELIM E TRIGO FERMENTADO COM <i>Agaricus brasiliensis</i> E MINERAIS	134

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
Aw	Atividade de água
ΔE	Variação de Cor
IC	Intervalo de Confiança
EPS	Exopolissacarídeo
GL	Graus Gay Lussac
ANOVA	Análise de Variância
CAET	Capacidade Antioxidante Equivalente em Trolox
EAG	Equivalente em Ácido Gálico
P.A.	Padrão Analítico
DERAL	Departamento de Economia Rural
SEAB	Secretaria de Agricultura e Abastecimento
DCCR	Delineamento Composto Cetral Rotacional
ADQ	Análise Descritiva Quantitativa
atm	Atmosfera
M	Molar
nM	Nanometro
R ²	Coeficiente de Determinação/Variação/Correlação

1 INTRODUÇÃO

A mudança nos padrões alimentares fez com que as pessoas modificassem seu perfil de consumo, procurando cada vez mais alimentos de qualidade com elevado teor nutritivo e com características sensoriais agradáveis. Desse modo, a sociedade vem buscando alimentos com fins especiais e que ajudem de alguma forma na manutenção da saúde. Uma vez que a alimentação influencia diretamente a saúde do homem, e é apontada como um dos fatores mais importantes para a longevidade com qualidade de vida; a população mundial mostra grande interesse e consciência em relação à saúde e ao papel dos alimentos para manter e melhorar o bem-estar humano.

Uma grande parcela dos consumidores se preocupa com a saúde e o bem-estar, essa mudança comportamental aponta que esses indivíduos estão conscientes da necessidade de ingerir alimentos saudáveis. Entre os vários alimentos que têm se destacado por apresentarem componentes importantes para uma dieta saudável, encontram-se os cogumelos. Em razão do elevado teor de proteínas, seu consumo é indicado como uma fonte alternativa de proteína. Os cogumelos são fungos conhecidos desde a antiguidade devido à sua utilização como alimento de elevado valor nutritivo e terapêutico. Assim, o cultivo de cogumelos vem expandindo, tornando-se uma atividade agrícola de considerável importância econômica no mundo.

Há um mercado crescente para os produtos derivados de cogumelos medicinais. Em 2006, o mercado mundial para a indústria de cogumelos e seus produtos derivados foi avaliado em 45 bilhões de dólares. Estima-se que na última década, o valor de mercado de derivados de cogumelos medicinais e seus suplementos dietéticos contribuíram com seis bilhões de dólares para a economia mundial. Logo, esse é um ramo que tende a ser explorado cada vez mais (PAPASPYRIDIS et al., 2011 a).

Por promover o equilíbrio no organismo, auxiliar na regulação do metabolismo geral, o cogumelo *Agaricus brasiliensis* é utilizado na prevenção de muitas doenças como câncer, diabetes, doenças coronárias, entre outras (MIZUNO, 1999). Além das propriedades imunomoduladoras, possui substâncias efetivas para a diminuição do colesterol que ocasionam melhoras na hiperlipidemia, reduzem

pressão sanguínea, têm atividade hipoglicêmica e atividade antioxidante (DALLA SANTA et al., 2010).

As barras de cereais já fazem parte da dieta usual da população. O consumo desses alimentos continua em constante crescimento devido à sua conveniência e associação com alimentos saudáveis. Diversas pesquisas vêm sendo realizadas visando o desenvolvimento de barras de cereais com novos ingredientes alimentícios, nutritivos e/ou funcionais, principalmente buscando alternativas que possibilitem a utilização de ingredientes mais saudáveis para a elaboração desses produtos.

Devido à crescente busca dos consumidores por alimentos saudáveis, naturais e convenientes, diversas pesquisas visam melhorar o valor nutricional de inúmeros alimentos, tornando-os mais saudáveis e atrativos (SUN-WATERHOUSE et al., 2010). Portanto, quando se trata da saúde da população, uma das questões abordada é a deficiência de nutrientes, dentre eles os minerais. Logo, o enriquecimento de alimentos, por meio da adição de minerais, tende a ser alvo de muitas pesquisas, pois esses são considerados nutrientes fundamentais por participarem de diversas funções metabólicas.

Desse modo, a adição de minerais ao meio de cultivo pode possibilitar a impregnação desses minerais, e essa biomassa enriquecida pode ser agente coadjuvante em produtos alimentícios em prol da saúde e bem-estar. E, ainda, em função da praticidade e facilidade de consumo das barras de cereais, este estudo foi uma tentativa de melhoria no aspecto nutricional desses produtos, por meio da adição de trigo fermentado com *Agaricus brasiliensis* enriquecido com zinco, cobre, selênio e cálcio, com a preservação dos atributos sensoriais do produto elaborado.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

O objetivo deste trabalho foi caracterizar física, química e sensorialmente as barras de cereais elaboradas com trigo fermentado com *Agaricus brasiliensis* e minerais.

1.1.2 Objetivos específicos

- Avaliar o efeito da adição de minerais no aumento da biomassa de *A. brasiliensis* em cultivo submerso e cultivo sólido;
- Avaliar compostos bioativos como ergosterol, beta-glucanas e a atividade antioxidante das barras de cereais formuladas com *A. brasiliensis* e minerais;
- Avaliar a aceitação e os atributos sensoriais (brilho, compactação, aroma, sabor, textura, crocância e mastigabilidade) das barras de cereais adicionadas de trigo fermentado com *A. brasiliensis* e minerais.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 COGUMELOS

Os fungos são constituídos por células, podendo ser unicelulares, quando são constituídos por células isoladas, ou pluricelulares, quando as células são agrupadas em filamentos denominados hifas. Um conjunto de hifas entrelaçadas constitui o micélio. Todas as partes de um fungo são formadas pelo micélio (BONONI et al., 1995). Eles são macrofungos com um corpo frutífero distinto, que pode ser hipogeo ou epigeo, grande o suficiente para poder ser visto a olho nú, ser colhido manualmente (CHANG e MILES, 1992).

Os cogumelos são fungos conhecidos desde a antiguidade devido à sua utilização pelo homem, como alimento de elevado valor nutritivo e terapêutico. No entanto, na natureza, existem centenas de espécies diferentes de cogumelos, sendo que alguns são venenosos, outros alucinógenos, incluindo outros que possuem propriedades medicinais curativas e até supostamente afrodisíacas. No mundo, há cerca de 10 mil espécies conhecidas de cogumelos, segundo especialistas, das quais 700 são comestíveis, 50 tóxicas e de 50 a 200 usadas em práticas medicinais (ERENO, 2004).

Os macromicetos, isto é, os cogumelos têm sido muito utilizados pelo seu valor medicinal. O consumo de cogumelos também está aumentando na cultura ocidental incluindo um grande número de espécies, além do popular champignon (FURLANI e GODOY, 2007). Os cogumelos comestíveis fazem parte de dois grandes grupos de fungos: Ascomycota (ascomicetos) e Basidiomycota (basidiomicetos) (ALEXOPOULOS, MIMS e BLACKWELL, 1996).

O filo Basidiomycota é composto por fungos denominados cogumelos, orelhas-de-pau, gasteróides, ferrugens e carvões e algumas leveduras. Estes fungos podem se reproduzir sexuada e assexuadamente, com a formação de basidiomas na reprodução sexuada, nos quais são produzidos os basidiósporos (KIRK et al., 2008).

Alguns exemplos de basidiomicetos comestíveis ou medicinais são *Grifola frondosa*, *Polyporus confluens*, *Herichium erinaceum*, *Lentinula edodes*, *Coriolus*

versicolor e os gêneros *Agaricus* e *Pleorotus* (ALEXOPOULOS, MIMS e BLACKWELL, 1996).

O termo "cogumelos nutracêuticos" foi cunhado por Chang e Buswell (1996) para descrever aqueles compostos que têm potencial considerável como suplementos dietéticos e para uso na prevenção e tratamento de várias doenças humanas, sem os problemáticos efeitos colaterais que frequentemente acompanham os tratamentos envolvendo drogas sintéticas. Como tal, um cogumelo nutracêutico é considerado como o micélio ou corpos de frutificação, que é consumido em uma cápsula ou na forma de comprimido como um suplemento dietético (não como um alimento regular) com potenciais aplicações terapêuticas (LAKHANPAL e RANA, 2005).

A busca por opções terapêuticas para diferentes patologias faz da pesquisa de produtos naturais um campo fértil em opções de moléculas com diferentes atividades biológicas. A relevância da pesquisa de produtos naturais proporciona a descoberta de novos fármacos e o estudo de substâncias, que possam agir sobre diferentes espécies oxidantes geradas no organismo humano, torna-se de grande importância (VELLOSA, BARBOSA e OLIVEIRA, 2007).

2.1.1 *Agaricus brasiliensis*

O cogumelo *Agaricus brasiliensis* é originário de Piedade interior do Estado de São Paulo (Brasil), em 1960, já era conhecido. Amostras desse fungo foram enviadas ao Japão, em 1965, para estudo no Institute Iwaide. Em 1967, Dr. Heinemann, cientista belga, identificou o fungo e o denominou de *Agaricus blazei* Murill. Posteriormente houve uma nova denominação para essa espécie nativa do Brasil: *Agaricus brasiliensis* (WASSER et al., 2002). Na FIGURA 1 pode-se observar uma ilustração desse cogumelo.

Assim, o nome *A. blazei* passou a ser conhecido após o nome desse cogumelo brasileiro passar a ser conhecido como "Cogumelo do Sol", cuja denominação virou marca registrada e popularizou o cogumelo. Depois, foi denominado como *A. blazei* Murrill sensu Heinemann, = *A. brasiliensis* Wasser, Diduck, de Amazonas e Stamets (WASSER, 2011).



FIGURA 1 – CORPO DE FRUTIFICAÇÃO DE *Agaricus brasiliensis*
FONTE: SOARES et al. (2009)

Em 1893, verificou-se que essa espécie era biológica e geneticamente identificada ao *Agaricus subrufescens* Peck. Desse modo, a denominação *A. blazei*, no presente trabalho, será utilizada quando se referir os trabalhos publicados com essa denominação taxonômica. E, nos demais casos, em concordância com Kerrigan (2005), será utilizado a denominação *A. brasiliensis*.

O Brasil destacou-se nos anos 90 como o maior produtor mundial de *A. brasiliensis*, por ser uma espécie nativa, apresentando as condições climáticas favoráveis para o seu cultivo (TOMIZAWA et al., 2007). Do total da produção nacional, 80% eram destinados à exportação, principalmente para o Japão, e 20% eram comercializados no mercado interno.

Em relação a produção de *A. brasiliensis* não existem estatísticas oficiais sobre a produção deste cogumelo ou dos cogumelos em geral no Brasil. A região do Alto Tietê, em São Paulo, é a maior produtora nacional. Estimativas de técnicos e produtores locais para a safra do ano 2000 - entre os meses de março e junho e de setembro a novembro - davam conta que a produção deveria alcançar cerca de 2,5 mil toneladas, volume que corresponderia a 80% da produção nacional (VILELA, 2012). O estado do Paraná vem aumentando sua participação na produção nacional e no último levantamento de dados da produção no Estado, em 2002, respondia por cerca de 5% da produção nacional (aproximadamente 20 mil toneladas/ano) (SECEX, 2002).

A produção brasileira, portanto, deve girar em torno de 3 mil toneladas anuais ou 0,12% da produção mundial, sendo quase a totalidade de champignon. O

valor da produção primária de cogumelos no Brasil alcançaria, portanto, cerca de R\$ 10 milhões anuais. Somando a produção interna às importações e subtraindo as exportações, estima-se que o consumo anual de cogumelos no país seja de 70 gramas por habitante (VILELA, 2012).

Tomizawa et al. (2007) reportaram que a produção nacional atinge por ano 40 toneladas de *A. brasiliensis* desidratado, sendo 95% da produção destinado à exportação para o mercado japonês.

O *A. brasiliensis* destacou-se por seu valor nutricional e medicinal, aliado às características peculiares quanto ao seu sabor, fragrância de amêndoas (doce e fresca) e excelente textura, tornando-se adequado a inúmeras aplicações culinárias, sendo um dos cogumelos cultivados mais valorizados no mercado mundial (STIJVE, AMAZONAS e GILLER, 2002).

A composição química do *Agaricus brasiliensis* é apresentada na TABELA 1. Devido às grandes quantidades de proteínas e fibras, pode-se dizer que esse cogumelo possui alto valor nutricional.

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO CORPO DE FRUTIFICAÇÃO DE *Agaricus brasiliensis*

PARÂMETROS	COMPOSIÇÃO		
	OLIVEIRA et al. (1999)	SHIBATA e DEMIATE (2003)*	HELM, CORADIN e KESTRING (2009)**
Umidade	9,67 %	13,92 %	-
Carboidratos	34,78 %	45,30 %	25,71%
Proteínas	10,13 %	37,40 %	38,91 %
Lipídios	1,48 %	0,99 %	1,63 %
Fibra bruta	14,57 %	8,82 %	26,18 %
Fósforo	0,87 %	n. r.	92,33 mg.100 g ⁻¹
Potássio	2,34 %	n. r.	243,31 mg.100 g ⁻¹
Ferro	79,13 mcg.100 g ⁻¹	n. r.	0,93 mg.100 g ⁻¹
Zinco	86,90 mcg.100 g ⁻¹	n. r.	1,31 mg.100 g ⁻¹
Cobre	61,88 mcg.100 g ⁻¹	n. r.	0,76 mg.100 g ⁻¹
Cálcio	0,07 mg.100 g ⁻¹	n. r.	4,35 mg.100 g ⁻¹

NOTA: n. r. (não relatado) * Valores médios ** Resultados em base seca

Segundo a RDC Nº 2, de 7 de janeiro de 2002, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o cogumelo *Agaricus blazei*, também conhecido como *A. brasiliensis*, é enquadrado na categoria de “Novos Alimentos” (BRASIL, 2002).

A comercialização desse cogumelo se dá sob a forma de pó, cápsula, tablete ou comprimido, devendo conter na tabela de informação nutricional a

quantidade da β -glucanas, como fibra solúvel, abaixo das fibras alimentares (CAMELINI et al., 2005 a). Apesar das formas mais consumidas desse cogumelo se apresentarem como formulações farmacêuticas, ele pode ser utilizado na elaboração de alimentos, pois apresenta gosto levemente adocicado. E o maior apelo para sua utilização ainda é o fator nutricional, devido ao seu teor de proteínas e ser fonte de fibras.

2.1.2 Enriquecimento de alimentos com fungos

Segundo Carvalho, Coelho e Takahashi (2010), a biomassa de fungos filamentosos pode ser utilizada para a nutrição humana como fonte de proteínas e minerais, além de possuir baixos níveis de gorduras, qualidades que são bem-vindas em ingredientes utilizados na alimentação.

As biomassas de *Penicillium roqueforti* e *P. camemberti* são bons exemplos da utilização de fungos em alimentos, nesse caso em queijos do tipo Roquefort, Camembert e Gorgonzola.

A. bisporus foi testado como um suplemento nutricional para pães, uma vez que é uma boa fonte de selênio, cromo, vitaminas e agentes antioxidantes (COREY, BEELMAN e SEETHARMAN, 2009).

A adição de micélio de cogumelos em pó em farinhas de semolina para preparação de massas foi sugerida como uma boa maneira de aumentar a ingestão de fibras visando a redução de doenças coronárias e incidência de diabetes. Essa adição, em torno de 10% de biomassa seca de cogumelos em massas alimentícias, foi aceita por provadores para os atributos cor, sabor, sensação na boca e elasticidade da massa (SALAMA, 2007).

Rhizopus oligosporus foi cultivado em resíduos de frutas (fermentação em estado sólido) destinado a aumentar a concentração de compostos livres de fenol com atividade antioxidante, uma vez que esses compostos são frequentemente encontrados em formas conjugadas a um açúcar ou fração lipídica (CORREIA et al., 2004). A ação de *Rhizopus sp.* e *A. oryzae* em subprodutos da agroindústria, como o farelo desengordurado de arroz e farelo de trigo, aumentou o conteúdo de proteínas em rações animais (SILVEIRA e FURLONG, 2007).

A investigação continuada das atividades biológicas de espécies de fungos e o desenvolvimento de novos produtos com adição de biomassa fúngica, a qual possui muitas vezes propriedades imuno-moduladoras e antitumorais, irá colaborar para a difusão desses micro-organismos benéficos à saúde em produtos alimentícios (YIN et al., 2010; TAO, ZHANG e ZHANG, 2009).

2.2 PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DO *Agaricus brasiliensis*

O cogumelo *A. brasiliensis* tem sido amplamente estudado nas áreas de ciência de alimentos, farmacologia, biotecnologia e medicina (LARGETEAU et al., 2011). Na área da medicina, vários estudos têm reportado que o *A. brasiliensis* apresenta atividade antibactericida (BERNARDSHAW, JOHNSON e HETLAND, 2005), antioxidante (SILVA et al., 2009 b), antidiabética (KIM et al., 2005), antiangiogênica (TAKAKU, KIMURA e OKUDA, 2001), anticancerígena (MANTOVANI et al., 2008), entre outras.

Osaki e colaboradores (1994) isolaram substâncias do corpo de frutificação do *A. brasiliensis*, com efeito antimutagênico. Dias, Abe e Schwan (2004) relataram que, os pesquisadores Higaki, Eguchi e Watanabe (1997) estabeleceram novos métodos para colheita dos corpos de frutificação do cogumelo, testando os efeitos medicinais, e obtendo resultados positivos quanto às doenças estudadas: diabetes, dermatite e hipertensão.

O *A. brasiliensis* possui moléculas com atividades antimutagênica, antiviral, antialérgica, antitumoral, imunomoduladora e antioxidante, e ainda outras substâncias bioativas como os terpenos, lipídios e fenóis que foram identificados e caracterizados evidenciando as propriedades medicinais dos basidiomicetos. Os efeitos dessas substâncias incluem a ativação do sistema imunológico que modulam e melhoram a resposta imune (SOARES et al., 2009).

2.2.1 Efeito hipocolesterolêmico

Muitos estudos dentro da área médica mostraram resultados positivos da utilização desse cogumelo no combate a patógenos humanos, e também na ativação do sistema imunológico e na melhora de problemas de saúde como o colesterol, a asma e a úlcera (DI PIERO e PASCHOLATI, 2004).

Além de seu valor nutricional, os cogumelos são amplas fontes de uma série de produtos naturais úteis. De fato, vários compostos, incluindo terpenoides, esteroides, fenóis, alcaloides e nucleotídeos, que tenham sido identificados e isolados a partir do micélio ou do corpo de frutificação de cogumelos, mostraram que têm efeitos biológicos promissores na prevenção de uma série de doenças predominantes em países ocidentais desenvolvidos, como hipertensão, hipercolesterolemia, diabetes e câncer (PAPASPYRIDIS et al., 2011 b).

2.2.2 Efeito antidiabético

Em estudo realizado em ratos diabéticos, Kim et al. (2005) verificaram que β -glucanas e oligossacarídeos de *A. blazei* Murill apresentaram efeitos antidiabéticos, sendo que os oligossacarídeos apresentaram duas vezes mais atividade anti-diabética que os β -glucanas.

Diversos relatos descrevem que as propriedades fisiológicas podem ser influenciadas por cogumelos, tais como a imunoproteção, a manutenção de homeostase, a regulação do biorritmo, a prevenção de doenças coronárias e cancerígenas. Relata-se também que cogumelos produzem substâncias efetivas para a redução do colesterol e da pressão sanguínea, além de substâncias com ação antitrombótica e hipoglicêmica (WASSER e WEIS, 1999).

Hsu et al. (2007) relataram que a suplementação com extrato de *A. blazei* Murill melhora os sintomas na diabetes tipo 2. Em estudo realizado pelos pesquisadores, 72 pacientes com diabetes tipo 2 receberam extrato de *A. blazei* ou um placebo diariamente durante 12 semanas. Ao final do estudo, os membros do grupo que recebeu o extrato de *A. blazei* mostraram melhoras significativas em

relação à resistência à insulina em comparação com aqueles que receberam o placebo.

2.2.3 Atividade antioxidante

Uma definição ampla para o termo antioxidante é: “uma substância que, quando presente em baixas concentrações, comparada ao substrato oxidável (que inclui várias substâncias encontradas em tecidos vivos, abrangendo proteínas, lipídeos, carboidratos e ácidos nucleicos), impede ou previne, significativamente, a oxidação desse substrato” (VANNUCCHI et al., 1998). Assim, por definição, a atividade antioxidante é a capacidade de um composto inibir a degradação oxidativa (ROGINSKY e LISSI, 2005).

Antioxidantes podem ser estudados em sistemas biológicos, quando existe a intermediação das espécies reativas de oxigênio (ERO), com a utilização de ensaios que medem a produção dessas (MARTINS et al., 2008).

Biologicamente, antioxidantes podem ser definidos como compostos que protegem os sistemas biológicos contra os efeitos deletérios dos processos ou das reações que levam à oxidação de macromoléculas ou estruturas celulares; assim os antioxidantes podem reduzir a incidência de diversas doenças (MOURÃO et al., 2011). Além de agir como sequestradores de radicais e quelantes de metais, antioxidantes fenólicos funcionam tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo.

Os compostos fenólicos são principalmente substâncias antioxidantes, cuja principal função é a proteção dos sistemas biológicos contra os defeitos degradantes dos processos e das reações que causam oxidação das moléculas ou estruturas celulares (VANNUCCHI e MARCHINI, 2007). Os radicais livres são altamente reativos, caracterizados por moléculas que apresentam um elétron isolado, livre para ligar a outro.

O desequilíbrio entre a formação e a remoção dos radicais livres no organismo, decorrente da diminuição dos antioxidantes endógenos ou do aumento da geração de espécies oxidantes, gera um estado pró-oxidante que favorece a ocorrência de lesões oxidativas em macromoléculas e estruturas celulares, inclusive

podendo resultar na morte celular (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1989). Esse tipo de lesão oxidativa é definido como estresse oxidativo.

Antioxidantes sintéticos têm sido utilizados na estabilização de alimentos: butil hidroxi anisol (BHA), butil hidroxi tolueno (BHT) e terc-butil hidroquinona (TBHQ) são adicionados às gorduras e óleos comestíveis para prevenir a deterioração oxidativa. Entretanto, tem sido relatado que os antioxidantes BHA e BHT possuem propriedades tóxicas e carcinogênicas (SOARES, 2002).

Soares et al. (2009) testaram corpos de frutificação de *A. brasiliensis* em diferentes estágios de maturidade, frente a sistemas oxidativos, como o método de inibição da peroxidação lipídica com ácido linoleico e caroteno, bem como avaliação antioxidante frente ao DPPH, habilidade de quelação de íon ferroso. Os pesquisadores obtiveram um índice EC50 de 3,0 mg.mL⁻¹ no ensaio com DPPH, e poder sequestrante de 90% para o extrato de *A. brasiliensis* na concentração de 6,0 mg.mL⁻¹. Ker et al. (2005) verificaram que o micélio também possui atividade antioxidante, testado frente ao DPPH e quelação de íons ferroso. Obtiveram uma faixa de 72,0% a 85,0 % de capacidade sequestrante em extrato de *A. blazei* com concentração de 5,0 mg.mL⁻¹.

2.2.3.1 Antioxidantes na dieta

A prevenção às doenças tem sido aceita como a maneira mais promissora de se controlar patologias. O consumo de frutas e vegetais auxilia na prevenção de processos degenerativos, diminuindo a incidência e a taxa de mortalidade por câncer ou doenças cardiovasculares, por exemplo. A prevenção, que as frutas e os vegetais promovem contra essas patologias, tem sido atribuída à ação de antioxidantes presentes nesses alimentos (VELLOSA, BARBOSA e OLIVEIRA, 2007; YEN, LAI e CHOU 2001).

Devido ao potencial carcinogênico de antioxidantes sintéticos, antioxidantes naturais são alternativas para minimizar ou retardar os processos de deterioração oxidativa em alimentos e para o desenvolvimento de alimentos funcionais (CHUN et al., 2005). Compostos fenólicos são bons agentes antioxidantes naturais (ATOUI et al., 2005). A atividade antioxidante de compostos orgânicos depende de algumas

características estruturais, que incluem, na maioria dos casos, a presença de grupamentos fenólicos.

2.3 COMPOSTOS BIOATIVOS DO *Agaricus brasiliensis*

Segundo Dalla Santa et al. (2009), a potente atividade biológica atribuída ao *A. brasiliensis* se deve aos seus compostos bioativos. A maior parte dos componentes presentes e também os mais pesquisados são os polissacarídeos. Outros compostos, como, lectinas, esteróis e ergosterol, vêm sendo pesquisados e têm demonstrado que em conjunto com os polissacarídeos, exercem ação fisiológica em diferentes metabolismos no organismo. Esse cogumelo é muito utilizado para prevenir câncer, e como coadjuvante para pacientes em tratamentos contra câncer, como quimioterapia ou radioterapia (LEE et al., 2003; TAKEDA et al., 2000).

2.3.1 Ergosterol

Esteróis são lipídios estruturais presentes na membrana da maioria das células eucarióticas. São moléculas derivadas de isoprenos com a característica comum de apresentarem um núcleo esteroide composto de quatro anéis carbônicos fusionados, três deles com cinco átomos de carbono e um com quatro (FIGURA 2). Dependendo dos organismos analisados, duplas ligações distintas podem estar presentes no núcleo esteroide, ou grupos químicos laterais distintos podem ser encontrados ligados ao núcleo esteroide (na posição C-17), o que diferencia os esteróis: colesterol em animais, ergosterol em fungos e protistas e sitosterol, entre outros, em plantas (SONG e NES, 2007).

Estruturalmente, colesterol e ergosterol são muito similares, sendo que algumas características de ambos são essenciais para suas atividades em membranas celulares: o grupamento 3β -OH e a ausência de grupamentos metil nas posições C-4 e C-14 são obrigatórios para o crescimento celular. O ergosterol

apresenta cadeia insaturada e o colesterol cadeia saturada (SOUZA e RODRIGUES, 2009).

O ergosterol é uma pró-vitamina D₂ existente nas plantas, fermentos e fungos; por ação da radiação ultravioleta, a molécula de ergosterol sofre um rearranjo intramolecular formando a vitamina D₂ (ISLABÃO, 1978).

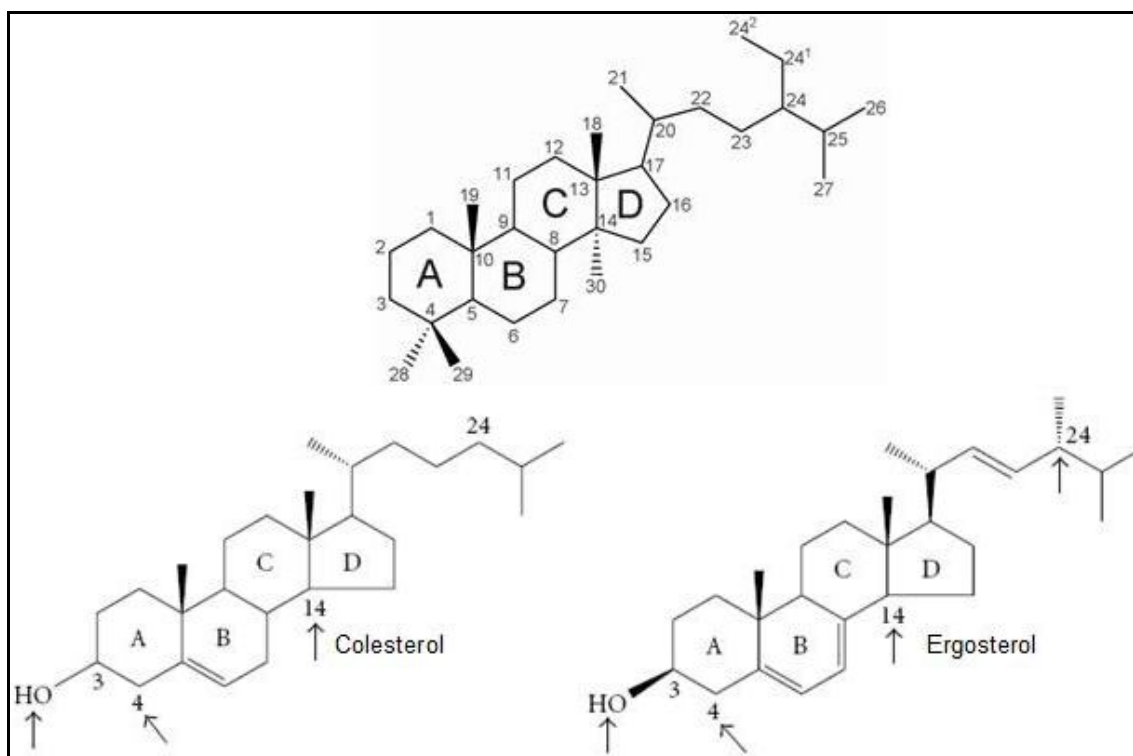


FIGURA 2 - ESTRUTURA QUÍMICA DOS ESTERÓIS

LEGENDA: Na parte superior da figura está representada a estrutura geral dos esteróis, com a nomenclatura química dos átomos de carbono; os quatro anéis carbônicos do núcleo esteroide são nomeados de A – D. Abaixo é evidenciado a estrutura do colesterol (principal esteroide de mamíferos) e ergosterol (principal esteroide de fungos e protozoários); as setas indicam partes das moléculas essenciais para a funcionalidade dessas moléculas.

FONTE: Adaptada de SOUZA e RODRIGUES (2009)

O ergosterol é um componente da membrana celular de fungos, cuja determinação quantitativa representa mais um parâmetro útil na averiguação do crescimento fúngico (GONG, GUAN e WITTER, 2001). A comprovação de importantes efeitos farmacológicos do ergosterol fúngico sobre o sistema imunológico, função renal e sistema cardiovascular têm incentivado pesquisadores a desenvolverem metodologias adequadas para sua extração e análise (LI e SHEN, 2003).

Esse esterol presente na fração lipídica da membrana celular de diversos cogumelos é um precursor de ergocalciferol, que possui comprovada ação antiangiogênica. A extração, isolamento e testes com o ergosterol, a partir do corpo frutífero de *A. brasiliensis*, possibilitaram demonstrar sua atividade antitumoral. O ergosterol preveniu a neovascularização induzida por células do carcinoma Lewis Loung e consequente inibição da angiogênese (DALLA SANTA et al., 2012; TAKAKU, KIMURA e OKUDA, 2001).

Desse modo, entre os metabólitos produzidos pelos fungos se destaca o ergosterol. Esse esterol é constituinte da membrana plasmática dos fungos, dos quais somente esses produzem tal esterol (GALVÃO et al., 2003). O ergosterol é um bom indicador de crescimento fúngico (ANDERSON et al., 1994), pois pode proporcionar uma boa correlação com a biomassa metabolicamente ativa do fungo. Logo, monitorar a quantidade de ergosterol apresenta-se como uma boa alternativa para avaliar as alterações de crescimento fúngico (GALVÃO et al., 2003).

A estimativa direta da biomassa em fermentação no estado sólido é dificultada devido à dificuldade de separar a biomassa da matriz do substrato. A biomassa pode ser indiretamente medida pela determinação de componentes celulares, tais como glucosamina (presente na quitina, um componente da parede celular de fungos), ergosterol (presente na membrana da célula), ou proteínas ou ácidos nucleicos (CARVALHO et al., 2006). A quantificação da produção de ergosterol determina nos fungos o nível de crescimento e, portanto, de biomassa produzida na fermentação no estado sólido. Diferente dos esteróis das plantas superiores, como o sitosterol, o ergosterol tem em sua estrutura um dieno conjugado, portanto, sua absorção específica de luz ultravioleta permite que ele seja identificado e quantitativamente estimado por espectrofotometria (GALVÃO et al., 2003; GUTAROWSKA e ZAKOWSKA, 2002).

2.3.2 Polissacarídeos

O *A. brasiliensis* é, dentre os cogumelos medicinais pesquisados, um dos que possuem a maior concentração de polissacarídeos; e ainda, o maior grupo de substâncias ativas presentes são os polissacarídeos ou proteoglicanas. Essas

moléculas podem ser isoladas do corpo frutífero, do micélio e do meio de cultivo filtrado, sendo que existem vários tipos de polissacarídeos, a maioria com potente atividade antitumoral (DALLA SANTA et al., 2010; DALLA SANTA et al. 2009; MIZUNO et al., 1990).

O cultivo micelial por fermentação submersa permite a recuperação do endopolissacarídeo (IPS) a partir da biomassa, enquanto que do caldo de cultivo se recupera o exopolissacarídeo (EPS), além de outras substâncias bioativas. A produção do EPS é um processo mais simples em relação à do IPS, já que a sua recuperação é relativamente fácil e não requer múltiplas etapas de extração, além de gerar menos produtos finais de degradação, sendo mais atrativa para produção em escala industrial (LEE, LEE e LEE, 1999).

De acordo com apontamentos feitos por Itoh, Ito e Amano (1994) os polissacarídeos produzidos por *A. blazei* podem ser proteo-glicanas com ligações β -(1 \rightarrow 6) na cadeia principal. Além disso, glucomananas com β -(1 \rightarrow 2) na cadeia principal têm sido isoladas a partir desse cogumelo e verificou-se que essas moléculas tem atividade antitumoral.

A maioria dos estudos sobre o efeito antitumoral do *A. blazei* se concentra nos polissacarídeos, sendo as beta-glucanas um dos principais compostos antitumorais (FERNANDES et al., 2011).

2.3.2.1 Beta-glucanas

As beta-glucanas, referidas usualmente por β -glucanas, são polissacarídeos de alto peso molecular encontrados em abundância em paredes celulares de muitos organismos, como bactérias, algas, fungos e plantas. As β -glucanas são constituídas por ligações glicosídicas β (1-3) e β (1-6) (PARK et al., 2003).

As β -glucanas dos fungos são polissacarídeos com função estrutural na parede celular do micélio, das frutificações, ou também podem ser exopolissacarídeos. Suas estruturas são altamente ordenadas, formadas por resíduos de açúcares D-glucose (anéis do tipo β -D-glucopirranose), e diferenciam-se pelo tipo de ligações entre as unidades desses açúcares da cadeia principal e por possuírem ramificações (unidade glucosila) conectadas a essa cadeia, com elevado peso

molecular (PM), características que lhes conferem estruturas específicas e ações biológicas distintas, sendo, portanto, a característica estrutural um fator fundamental para a atividade das β -D-glucanas no sistema imunológico (CAMELINI et al., 2005 a; CAMELINI et al., 2005 b).

Segundo Park et al. (2003), a localização desse polissacarídeo se faz na camada intermediária da parede celular (FIGURA 3a), adjacente à membrana plasmática, com função relacionada à rigidez e à forma. A β -glucana de *A. brasiliensis* é formada por um esqueleto de (1 \rightarrow 3)- β -D-glicose ao qual estão ligadas unidades do tipo (1 \rightarrow 6)- β -D-glicose de tamanhos variados e que ocorrem em diferentes intervalos ao longo do esqueleto central (FIGURA 3b).

Várias espécies de cogumelos têm sido estudadas por séculos, principalmente pela medicina chinesa que enaltece seus efeitos terapêuticos. A partir desses estudos, investigações começaram a ser realizadas, e as β -glucanas começaram a ser pesquisadas. Essas moléculas são modificadoras da resposta biológica, em relação ao sistema imunológico, com a possibilidade de propiciar efeitos conhecidos como anticancerígenos (NITSCHKE et al., 2011).

Esses polissacarídeos possuem atividades imunomoduladora, antitumoral e anti-infecções têm sido estudadas e utilizadas na prática. A maioria das β -glucanas com atividade biológica é derivada de fungos, particularmente as leveduras e essas substâncias são denominadas de modificadores da resposta biológica, pois interagem e modificam a resposta imunológica (biorregulação) do hospedeiro, controlam a homeostase, regula o biorritmo, prevenindo várias doenças (CAMELINI et al., 2005 b; DIJKGRAAF, HUIJUAN e BUSSEY, 2002; JONG, 2002; ROSS et al., 1999; WASSER e WEIS, 1999). A atividade antitumoral pode estar associada aos polissacarídeos existentes na parede celular do corpo de frutificação (fruto), esses compostos podem estimular a formação de anticorpos que inibem o crescimento de tumores (MANZI e PIZZOFERRATO, 2000).

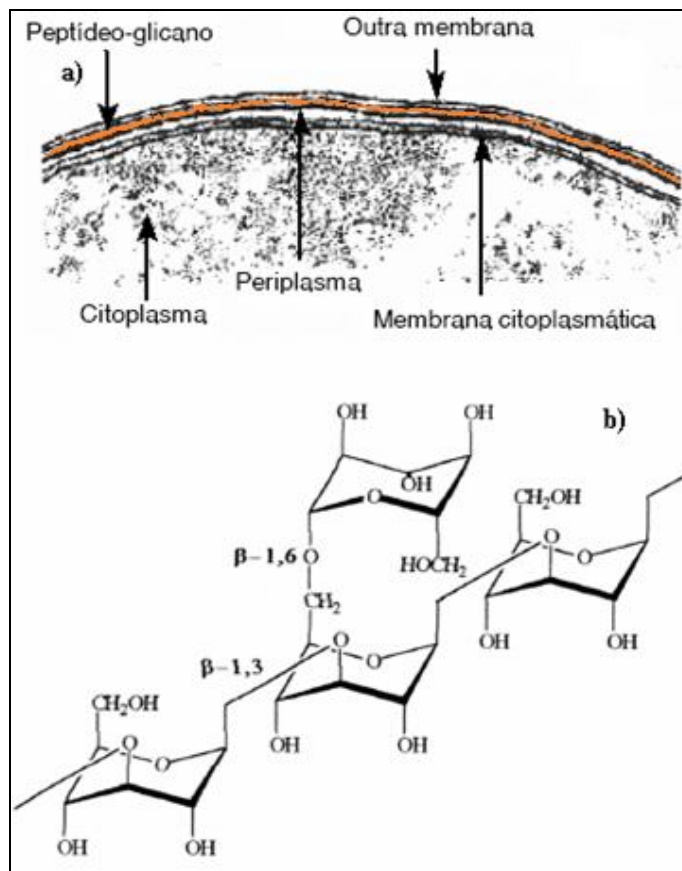


FIGURA 3 - LOCALIZAÇÃO DA β -GLUCANA NA PAREDE CELULAR DE COGUMELOS (a); ESTRUTURA DA (1 \rightarrow 3)-(1 \rightarrow 6)- β -D-GLUCANA DE COGUMELOS (b)
 FONTE: Adaptada de PARK et al. (2003)

A prevenção do câncer está se tornando cada vez mais importante nos tempos modernos, e as β -glucanas de alguns cogumelos, como os dos gêneros *Lentinus* e *Grifola*, já são conhecidas como agentes anticarcinogênicos desde o início dos anos 1970, e, em alguns países, são nominadas como ingredientes funcionais nos alimentos (LAROCHE e MICHAUD, 2007).

2.4 FERMENTAÇÃO SUBMERSA E FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO

A fermentação é uma manifestação fisiológica da célula viva, podendo ser definida como desassimilação (catabolismo de matéria orgânica como carboidratos, gorduras e proteínas) através de reações acopladas, catalisadas por enzimas intra e extracelulares, acarretando formação de substâncias intermediárias dos produtos

finais da oxidação biológica total, ou então, derivado dessas substâncias (REGULY, 1996).

Os processos fermentativos podem ser utilizados em escala industrial, a partir de substratos baratos e disponíveis, dependendo da facilidade de recuperação ou obtenção do produto visado (REGULY, 1996).

Existem dois tipos básicos de fermentação para produção de enzimas e outros metabólitos: Fermentação Submersa (FSm) e Fermentação em Estado Sólido (FES). Na FES, o micro-organismo cresce em substratos sólidos umedecidos ou suportes inertes, e na FSm, os substratos são dissolvidos em meio líquido. Neste caso, o micro-organismo pode crescer entre os fragmentos do substrato (dentro da matriz do substrato) ou sobre a superfície do substrato, consumindo-o e secretando metabólitos, dentre os quais as enzimas. O material sólido é insolúvel e age como suporte físico e como fonte de nutrientes, muitas vezes constituído de um substrato sólido natural, como resíduos da agricultura, ou um suporte inerte (MITCHELL et al., 2006; PANDEY, 2003).

A FES pode ser definida como o processo que se refere à cultura de micro-organismos sobre ou dentro de partículas em matriz sólida (substrato ou material inerte), onde o conteúdo líquido (substrato ou meio umidificante) ligado a ela está a um nível de atividade de água que, por um lado, assegure o crescimento e metabolismo das células e, por outro lado, não exceda à máxima capacidade de ligação da água com a matriz sólida (DEL BIANCHI, MORAES e CAPALBO, 2001).

São algumas vantagens da FES: condições da cultura próximas às que se desenvolvem em meios naturais, simplicidade no preparo do meio de cultura, diminuição de contaminações, redução dos efluentes líquidos a tratar, resíduos sólidos mais estáveis após a fermentação, produção concentrada de metabólitos e a eliminação da formação de espuma. Por outro lado, as limitações da técnica ainda impedem sua ampla utilização industrial, como dificuldade de remoção de calor, tipos de substratos limitados e a dificuldade de se medir variáveis como pH, oxigênio dissolvido, quantidade de água e concentração do substrato no estado sólido (SOCCOL e VANDENBERGHE, 2003).

A FSm possibilita um maior controle do processo num menor período de tempo (5 a 7 dias), na eficiência, na transferência de O_2 , remoção do CO_2 e em menor risco de contaminação. Isso confere vantagem ao processo na obtenção do micélio com maior pureza já que a biomassa é facilmente separada do meio de

cultivo, assim como as β -glucanas, e podem ser isoladas e utilizadas com finalidade farmacêutica (CAMELINI et al., 2005 a).

O cultivo submerso pode ser empregada na sorção (adsorção e/ou absorção) de metais por micro-organismos. E isso tem despertado a atenção de pesquisadores pela capacidade de produção de biomassa microbiana em comparação com outros solventes inorgânicos e orgânicos, tornando-se mais rápido e barateando o processo (VOSS e THOMAS, 2001).

Camelini et al. (2005 b) salientaram que no cultivo sólido é mais difícil quantificar e separar a biomassa fúngica e o polissacarídeo específico de sua parede celular, sendo mais viável para obtenção de matéria-prima para a área de alimentos, pois não é necessária a separação dos produtos obtidos na fermentação para a formulação de nutracêuticos.

Algumas diferenças entre a fermentação submersa e a fermentação no estado-sólido estão apresentadas na TABELA 2.

TABELA 2 – COMPARAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DA FERMENTAÇÃO NO ESTADO SÓLIDO E DA FERMENTAÇÃO SUBMERSA

Fermentação no Estado Sólido	Fermentação Submersa
Meio de cultura não flui livremente	Meio de cultura sempre flui livremente
Altura do meio limitada	Altura do meio variável com o biorreator
Baixa capacidade de transferência de calor	Fácil controle de temperatura
Fácil aeração e grande área de contato ar/substrato	Aeração requer elevado fluxo
Baixo consumo de energia	Elevado consumo energético
Condições estáticas	Boa homogeneização
Pequenos volumes e baixos custos de equipamentos	Grandes volumes e elevado custo tecnológico
Menor volume de resíduos líquidos	Processos difusionais e de mistura são facilitados devido ao caráter homogêneo do sistema
Menor possibilidade de contaminação, pela baixa umidade do sistema	A purificação das moléculas dos produtos obtidos é facilitada pela ausência ou baixa concentração de partículas do substrato

FONTE: Adaptado de CASTRO e PEREIRA JUNIOR (2010)

2.5 PRODUÇÃO DE BIOMASSA E A BIOACUMULAÇÃO DE NUTRIENTES

A produção de biomassa de *A. brasiliensis* é de grande interesse comercial, uma vez que esse micro-organismo pode ser utilizado em alimentos, tanto na forma micelial quanto como corpo de frutificação, o qual tem sido aplicado na culinária como um alimento nutracêutico e funcional (STIJVE et al., 2002).

A biomassa do *A. brasiliensis* tem um gosto levemente adocicado pela presença de aminoácidos como alanina e açúcares totais, que mascaram a presença do ácido aspártico e do glutâmico, responsáveis pelo gosto amargo (CHANG et al., 2001). Além da atrativa composição nutricional rica em minerais e vitaminas, possui também fibras que facilitam a digestão (TAKAKU, KIMURA e OKUDA, 2001). A ingestão por camundongos da biomassa produzida tanto em fermentação submersa quanto em estado sólido apresentou atividade antitumoral frente ao sarcoma 180 (DALLA SANTA et al., 2010).

O meio de cultivo utilizado na produção de micélio influi na composição centesimal do mesmo e também na atividade biológica de seus metabólitos. Adicionando zinco ao meio de cultivo, Zou (2005) observou um incremento na atividade antitumoral dos polissacarídeos produzidos por FSm. Sussumu e Kazuhiro (2010) abordaram sobre a produção de biomassa de leveduras com cobre e/ou zinco para o consumo humano (alimento) ou para estética (cosméticos), e relataram que as leveduras são capazes de acumular minerais com a utilização de meios sintéticos como substratos para a fermentação.

A bioacumulação caracteriza-se pelo uso da habilidade que células ou micro-organismos vivos têm de absorver metais de uma solução (KADUKOVÁ e VIRCÍKOVÁ, 2005). Isso pode ocorrer por meio da adsorção de espécies metálicas, valendo-se de mecanismos físico-químicos na superfície celular. Em células vivas, a atividade metabólica também pode influenciar esse processo por causa da mudança do pH, nutrientes orgânicos e inorgânicos e dos metabólitos produzidos. Além da sorção que acontece nas superfícies celulares, algumas espécies catiônicas podem ser acumuladas dentro das células, via sistemas de transporte de membrana, variando de acordo com a afinidade e com a especificidade. Uma vez dentro das células, as espécies metálicas podem ser ligadas, precipitadas, localizadas dentro

de estruturas ou organelas celulares, dependendo do elemento e do micro-organismo (ARAKAKI et al., 2011).

Rabinovich et al. (2007) estudaram o bioacúmulo de zinco e cobre em *A. blazei* Murril para obter combinações orgânicas de potencial utilidade como um suplemento alimentar. Para isso avaliaram a biodisponibilidade e acumulação desses minerais no micélio do micro-organismo que foi cultivado na presença desses metais.

O uso da biomassa de micro-organismos enriquecida com minerais é importante para atender as mais diversas áreas, como alimento humano e animal, cosmético, farmacêutico, entre outras (MANZONI, ROLLINI e BENEDETTI, 2010).

2.6 MINERAIS

Os minerais, ou micronutrientes, são compostos essenciais para replicação celular, crescimento e desenvolvimento dos sistemas fisiológicos. Sua deficiência pode ocorrer devido à ingestão inadequada ou associada a doenças específicas. Além de sua função regulatória, atuam de maneira decisiva na modulação da resposta imune. Em especial, os minerais têm um papel crítico nesse sistema, agindo em inúmeras atividades enzimáticas (MACEDO et al., 2010).

Os minerais são considerados nutrientes fundamentais por participarem de diversas funções do metabolismo, compondo estruturas de biomoléculas, atuando na manutenção e crescimento de tecidos, participando como cofatores de enzimas e ativando ações hormonais (PASA, 2010). Podem ser componentes importantes do tecido, ou como a sua função primária, a manutenção de equilíbrio ácido-base, o controle osmótico de distribuição de água no corpo ou o transporte de oxigênio. Muitos minerais estão envolvidos em sistemas de catálise enzimática, quer como componentes integrantes de metalo-enzimas ou como ativadores nos sistemas de enzimas. Outro papel dos minerais é na regulação da replicação e diferenciação celular, por meio das vias de sinalização celular (McCLURE, 2008; UNDERWOOD e SUTTLE, 1999; McDONALD, EDWARDS e GREENHALGH, 1998).

Como estratégia de combate a algumas deficiências nutricionais inclui-se a fortificação de alimentos com minerais e mesmo o uso de suplementação, em

populações de risco (LOBO e TRAMONTE, 2004). Desse modo, o enriquecimento de alimentos pela adição de minerais é um fator inerente à realidade das indústrias de alimentos na atualidade, visto que grande parte da população mundial apresenta deficiência de vitaminas e minerais (MANDELBAUM-SCHIMID, 2004).

2.6.1 Zinco

O zinco é o micromineral mais abundante no meio intracelular, envolvido em funções catalíticas, estruturais e regulatórias (PECHOVA, PAVLATA e LOKAJOVA, 2006). Esse mineral participa do metabolismo de carboidratos, proteínas e ácidos nucleicos (NRC, 2001). O zinco desempenha importante papel no sistema imune por ser componente essencial de mais de 300 enzimas, incluindo às envolvidas na síntese de DNA e RNA, e assim também envolvido na replicação e proliferação de células imunes (SPEARS e WEISS, 2008). Cofator de proteínas corporais envolvidas na proteção contra o estresse oxidativo e na reparação do DNA. Além disso, participa da síntese de proteínas de fase aguda. Sua concentração adequada está relacionada a um funcionamento normal da imunidade adaptativa e inata (NOGUEIRA, BORGES e RAMALHO, 2010).

Esse mineral é de grande importância para a saúde humana, toma parte de diversas funções bioquímicas, é um componente de numerosas enzimas. Também está envolvido na divisão celular, expressão do gene, processos fisiológicos como crescimento e desenvolvimento, transcrição genética e morte celular. Atua como um estabilizador de estruturas de membrana e os componentes celulares e os participantes em função imune e desenvolvimento cognitivo (MAFRA e COZZOLINO, 2004; MOCCHEGIANI e MUZZIOLI, 2000).

A suplementação de zinco reduz o impacto de várias doenças, porque promove sistema imunitário melhorado (FRAKER et al., 2000; RINK e KIRCHNER, 2000).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a Recomendação Ingestão Diária (RDA) para o zinco é de 15 mg/dia para homens e 12 mg/dia para mulheres (REHMAN, REHANA e YAWAR, 2012).

2.6.2 Cobre

Mineral que está presente em diversas enzimas e proteínas, e suas funções fisiológicas estão associadas à respiração celular, desenvolvimento do tecido conectivo, mielinização da medula espinhal, processos de queratinização e pigmentação. É um nutriente essencial e co-fator catalítico em importantes metaloenzimas, como a Cu-Zn superóxido dismutase, citocromo oxidase, dopamina- β -hidroxilase e tirosinase, por exemplo (MCDOWEE, 2003).

O cobre colabora na formação de eritrócitos e atua em mecanismo que mantém em equilíbrio o zinco e a vitamina C, de modo a formar elastina. Diretamente envolvido no processo de cicatrização e na produção de energia (NOGUEIRA, BORGES e RAMALHO, 2010).

O cobre está presente ainda no sítio ativo de algumas enzimas que catalisam reações oxidativas. A disponibilidade de cobre nos alimentos é pequena, em relação aos outros minerais, cerca de 4%, e essa disponibilidade está intimamente ligada à forma química em que se encontra esse microelemento e sua solubilidade (ORTOLANI, 2006).

A OMS sugere que o consumo médio de cobre pela população não deve exceder 12 mg/dia para os homens adultos e 10 mg/dia para mulheres adultas (REHMAN, REHANA e YAWAR, 2012).

2.6.3 Selênio

O selênio é um micromineral essencial ligado à fertilidade e à prevenção de várias doenças (OLSON, 1995). Também é componente da enzima glutathione peroxidase que atua como antioxidante convertendo peróxido de hidrogênio à água, além de integrar também a iodotironina-5-deiodinase, enzima que converte T4 em T3. Desse modo, o selênio está envolvido com três funções básicas do organismo: defesa antioxidante, metabolismo do hormônio da tireoide e controle das reações celulares (MCDOWEE, 2003).

Esse mineral está presente no corpo humano, sob a forma de selenocisteína e selenometionina. A melhor função conhecida do selênio é a de antioxidante, possivelmente através da associação do elemento com a enzima glutathione peroxidase. A glutathione peroxidase é um dos agentes mais importantes na proteção do corpo contra a ação dos radicais livres, reduzindo o peróxido de hidrogênio e uma grande variedade de peróxidos orgânicos (ALMONDES et al., 2010; FERREIRA et al., 2002; VIARO, VIARO e FLECK, 2001).

Presente também na modulação do sistema imune, assim atua na proteção de doenças cardiovasculares e alguns tipos de câncer. E, em 2008, descobriu-se o envolvimento do selênio como mediador da ação da insulina (ABDALLA e SENA-EVANGELISTA, 2008).

Estudos sobre o uso de selênio para suplementar a alimentação humana já despertaram interesse no campo da pesquisa científica, principalmente pelo papel desse mineral na prevenção de câncer e seu efeito antiviral (LYONS, STANGOULIS e GRAHAM, 2003).

A OMS recomenda 40 µg de selênio por dia para adultos. No entanto, a suplementação de selênio orgânico até 200 µg por dia não é considerada tóxica para adultos, e melhora as respostas imunes. Há relatos de que o ser humano tolera até doses de 400 µg/dia de selênio (ESTRADA et al., 2009). O mineral reduz, ainda, infecções bacterianas e virais, doenças cardíacas, incidência de câncer de mama, de próstata, de pulmão e de fígado (BAÑUELOS et al., 2012). A ingestão de selênio atenua os sintomas da doença de Alzheimer e demências associadas (ELLIS e SALT, 2003).

2.6.4 Cálcio

O cálcio é o mineral mais abundante do indivíduo, é essencial na construção e manutenção de ossos e dentes, mas também atua no papel dos hormônios proteicos, auxilia na transferência de íons através das membranas, participa na liberação de neurotransmissores das junções sinápticas e regula a frequência cardíaca (ROCHA et al., 2008; SILVA e MURA, 2007). Muitos estudos têm mostrado

que a ingestão de cálcio evita doenças, tais como a osteoporose, hipertensão, obesidade e cancro do cólon (PEREIRA et al., 2009; HEANEY, 2006).

O mineral possui muitas funções, formação de fluidos e tecidos, regulação cardíaca, componente de sistemas enzimáticos, condução nervosa, proliferação celular, secreção de hormônios, estimulante da contração muscular, coagulação do sangue e, mais importante, manter a estrutura e qualidade da massa óssea (VALENCIA GARCIA, ROMAN MORALES e CARDONA SANCHEZ, 2011; CACERES, GARCIA e SELGAS, 2006). Pesquisas evidenciam os benefícios adicionais do cálcio na prevenção do câncer de cólon retal (BONITHON-KOPP et al., 2004) e regulação da pressão sanguínea (CACERES, GARCIA e SELGAS, 2006).

Segundo Martins et al. (2009), o cálcio desempenha funções estrutural e reguladora. A função estrutural principal está associada ao desenvolvimento e à formação óssea. O cálcio nos ossos deve estar em equilíbrio com o cálcio sanguíneo; a regulação do cálcio plasmático é controlada por um complexo sistema fisiológico hormonal, que envolve os hormônios paratireoidianos (paratormônio), tireoidiano (calcitonina) e o calcitriol (forma biologicamente ativa da vitamina D).

A ingestão adequada de cálcio para adultos é 1000-1300 mg/dia, dependendo da idade e sexo (ANTOINE et al., 2012).

2.7 BARRAS DE CEREAIS

As barras de cereais são classificadas como *snacks*, que são definidos como pequenas refeições, leves ou substanciais. O consumo desse tipo de alimento apresenta crescimento constante devido à sua praticidade, que, com a mudança no estilo de vida da população, se tornou uma das características mais importantes para a escolha de um alimento (SAMPAIO, FERREIRA e CANNIATTI-BRAZACA, 2009; BRITO et al., 2004).

Barras de cereais são produtos obtidos da mistura ou combinação de três ou mais alimentos higienicamente preparados, com específicos valores nutritivos e específico sabor. Ao ser acrescentado agente ligante, obtém-se textura adequada ao produto, que é embalado e comercializado em porções individuais de

aproximadamente 25 gramas, as quais são obtidas das mais variadas combinações de ingredientes, principalmente com frutas e cereais (PONTES et al., 2009).

Em 1992, foi lançada, no Brasil, a primeira barrinha de cereal. O produto, talvez inovador demais para a época, não foi bem aceito pelo consumidor, e, somente alguns anos depois, as barras de cereais foram ganhando espaço, chegando a um crescimento de 25% ao ano (FARINAZZI-MACHADO et al., 2012; BARBOSA, 2007).

As barras de cereais ganharam grande popularidade no mercado, pela praticidade, seus valores nutricionais e seu sabor. A barra é uma ótima opção para quem busca uma alimentação saudável nos lanches, ou também um complemento para refeições (DEGÁSPARI, BLINDER e MOTTIN, 2008). Empresas nacionais desse segmento disputavam um mercado de R\$ 80 milhões. Pesquisas apontam dados de que no Brasil consomem-se 4 milhões de barras de cereais por ano, os norte-americanos consomem aproximadamente 2,9 bilhões (FREITAS e MORETTI, 2006). O catalisador para o crescimento do segmento de barra de cereais nos Estados Unidos foi os produtos inovadores e com foco em conveniência e saúde (PALAZZOLO, 2003).

Pehanich (2003) reportou que barras nutricionais e energéticas ganharam o mercado consumidor nos segmentos *diet* “para mulheres”, “atletas de fim de semana”, “esportistas”, e outros. Devido ao aumento do interesse da população por alimentos naturais, a indústria de alimentos está se orientando na elaboração de produtos mais nutritivos que tenham um bom aporte de carboidratos, proteínas, vitaminas, minerais e fibras.

A associação entre barra de cereais e alimentos saudáveis foi uma tendência no setor de alimentos, o que beneficiou o mercado desses produtos (ESCOBAR et al., 1998). A mudança da rotina diária de parte da população provocou um aumento na demanda e na ampliação do desenvolvimento de produtos de conveniência, prontos para o consumo (FREITAS e MORETTI, 2006).

As barras de cereais têm alta demanda no mercado. Estudos comportamentais realizados com norte-americanos apontam que eles gastam um pouco mais que a metade de seu orçamento de alimentação com produtos alimentícios prontos para o consumo, sem cozimento, preparo ou limpeza (DUTCOSKY et al., 2006; KATZ, 1999).

Segundo Gutkoski et al. (2007), as barras de cereais atendem a tendência de satisfazer o paladar dos consumidores que buscam uma alimentação equilibrada, saborosa e saudável. Esses produtos são elaborados a partir da extrusão da massa de cereais de sabor adocicado e agradável, fonte de vitaminas, sais minerais, fibras, proteínas e carboidratos complexos.

Os cereais em barras são multicomponentes e podem ser muito complexos em sua formulação. Os ingredientes devem ser combinados de forma adequada para garantir que se complementem mutuamente nas características de sabor, textura e propriedades físicas, particularmente no ponto de equilíbrio de atividade de água. Na literatura, apresentam-se diferentes tipos de ingredientes para formulação das barras de cereais, em sua maioria as formulações possuem três grupos, os ingredientes secos, aglutinantes e os compostos de revestimento (DUTCOSKY et al., 2006).

Vários trabalhos foram realizados para desenvolvimento de novos produtos a partir de alimentos alternativos, com subprodutos ou suplementados. Sampaio, Ferreira e Canniatti-Brazaca (2009), elaboraram barras de cereais fortificadas com ferro. Lima et al. (2010), visando o aproveitamento alimentar dos recursos frutíferos do Cerrado, elaboraram barras de cereais com polpa e amêndoa de baru, fruto regional. Ramakrishna, Reddy e Reddy (2005) patentearam a invenção que provê uma formulação de barra de cereal moderna incluindo açúcar mascavo, produtos de arroz extrusado, amidos modificados e amendoins torrados. Sirohi et al. (2001) apresentaram em sua patente uma formulação de barras de cereais contendo ingredientes variados como sólidos não gordurosos do leite, gordura do leite, diferentes tipos de materiais amiláceos, de açúcares e de umectantes.

2.8 ANÁLISE SENSORIAL

Por definição, análise sensorial é a área científica usada para evocar, medir, analisar e interpretar reações das características dos alimentos e materiais como são percebidos pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição (ABNT, 1993).

Na indústria de alimentos, a análise sensorial é o elemento chave para identificar as expectativas dos consumidores. A análise sensorial compreende um

conjunto de técnicas para medir precisamente atributos sensoriais de produtos a partir de respostas humanas. Tais técnicas utilizam princípios oriundos da ciência de alimentos, fisiologia, psicologia e estatística, fornecendo respostas objetivas para as propriedades de alimentos, conforme percebidas pelos cinco sentidos (PIGGOT, 1984).

Um alimento deve produzir satisfação e ser agradável ao consumidor. Isso é resultante da interação de diferentes parâmetros de qualidade sensorial. No desenvolvimento de novos produtos, é imprescindível aperfeiçoar parâmetros, como forma, cor, aparência, odor, sabor, textura, consistência e a interação dos diferentes componentes, com a finalidade de alcançar um equilíbrio integral que se traduza em uma qualidade excelente e que seja de boa aceitabilidade (BARBOZA, FREITAS e WASZCZYNSKYJ, 2003).

Informações obtidas através de avaliações sensoriais podem ser utilizadas por empresas como suporte técnico para pesquisa, industrialização, marketing e controle de qualidade dos itens produzidos, qualificando decisões técnicas e administrativas. Na perspectiva do consumidor, a avaliação sensorial em produtos industriais assegura que cheguem ao mercado com as características desejadas (ROSSINI, ANZANELLO e FOGLIATTO, 2012).

A percepção das características sensoriais de um alimento é por meio de sinais elétricos que são enviados ao cérebro pelo sistema nervoso, por meio de uma corrente de neurônios. Primeiramente, certa quantidade de informações sobre estímulo é registrada pelos receptores sensoriais (TUAN, 1980). Os receptores visuais em resposta à luz geram energia elétrica, o tato e a audição respondem à energia mecânica (pressão e vibração) e o gosto e o odor recebem a energia química (PIGGOT, 1984).

As características sensoriais do ser humano permitem-no comparar, diferenciar e qualificar os atributos sensoriais. A análise sensorial utiliza essa capacidade para avaliação de alimentos e bebidas, empregando uma metodologia adequada aos objetivos em estudo, com auxílio de tratamento estatística dos resultados (FERREIRA et al., 2000).

Levando em consideração que a análise sensorial se utiliza dos órgãos dos sentidos como instrumento de avaliação, as sensações complexas, que resultam da interação desses sentidos, são usadas para medir a qualidade dos alimentos nos processos de controle da qualidade e desenvolvimento de novos produtos e também

para pesquisar a aceitabilidade do consumidor. A análise sensorial evidencia a ligação direta do julgador com a qualidade do produto, bem como com o desenvolvimento de novos produtos e para essas avaliações utilizam-se métodos sensoriais específicos, para cada produto em estudo (MINOZZO, WASZCZYNSKYJ e BOSCOLO, 2010).

Segundo Meilgaard, Civille e Carr (1991), o homem apresenta a tendência de apreciar os atributos de um alimento na seguinte ordem: aparência, odor/aroma, consistência, textura e sabor. A decisão de aceitar ou rejeitar um produto é influenciada basicamente pela sua aparência. Como fator importante de aceitação, a cor de um produto envolve componentes físicos e fisiológicos em relação à percepção do olho com o comprimento de onda da luz. Uma vez que a cor é uma característica da luz, mensurável em termos de intensidade (energia radiante) e comprimentos de onda. Esses comprimentos de onda variam de 400 a 500 nm correspondendo ao azul, 500 a 600 nm correspondendo ao verde e amarelo e de 600 a 800 nm ao vermelho. Ela surge da presença da luz, em maior intensidade, em alguns comprimentos de onda mais do que em outros (CHAVES, 1980). A cor é um atributo tridimensional constituído pelos parâmetros matiz, brilho e pureza. Matiz é a cor do objeto, brilho é a luminosidade, forma de se distinguir entre cores claras e escuras, e pureza é intensidade da cor (GODOY et al., 2012; LAWLESS e HEYMANN, 1999).

Muitos sistemas de classificação de cores são conhecidos, como CIE, Munsell, Hunter e Lovibond. O mais importante é o sistema CIE, cujos critérios estabelecidos pela Comissão Internacional de Iluminação se basearam na percepção da cor pelo olho humano. Nesse sistema, as coordenadas retangulares (L^* a^* b^*), definem o espaço cromático (DE MAN, 1999).

Segundo Lawless e Heymann (1999) a variação no eixo L^* representa mudanças na luminosidade, com uma faixa de ($L^* = 0$ correspondendo ao preto e $L^* = 100$ correspondendo ao branco), a^* e b^* são as coordenadas de cores responsáveis pela cromaticidade ($+a^*$ = vermelho e $-a^*$ = verde, $+b^*$ = amarelo e $-b^*$ = azul).

Assim, por meio da visão, tem-se as primeiras impressões do produto quanto à sua aparência global, envolvendo características de cor, tamanho, formato, brilho, impurezas, granulometria e outros atributos de textura (FERREIRA et al., 2000).

Odor/aroma de um produto é detectado quando compostos voláteis são percebidos na cavidade nasal e pelo sistema olfativo externo. Aroma é o odor de um produto alimentício. O odor é a propriedade sensorial perceptível pelo órgão olfativo quando certas substâncias voláteis são aspiradas e o aroma é perceptível pelo órgão olfativo via retronasal durante a degustação (ABNT, 1993; MEILGAARD, CIVILLE e CARR, 1991).

O sabor dos alimentos tem sido definido como a impressão percebida por meio de sensações químicas de um produto na boca. Sabor inclui aroma, gosto e sensação química. A sensibilidade ao gosto não se limita apenas à língua. Existem outras regiões que respondem também aos estímulos: palato duro, amídalas, epiglote e ainda em certas pessoas a mucosa dos lábios, das bochechas e a superfície inferior da boca (FERREIRA et al., 2000; MEILGAARD, CIVILLE e CARR, 1991).

A textura pode ser definida como a manifestação sensorial da estrutura de um alimento, sendo percebida simultaneamente pelos sentidos do tato e audição. Segundo a ABNT (1993), textura é definida como todas as propriedades reológicas e estruturas (geométricas e de superfície) de um alimento perceptíveis pelos receptores mecânicos, táteis e eventualmente pelos receptores visuais e auditivos (JELLINEK, 1985). Esse atributo pode ser determinado pelos métodos fundamentais, empíricos e imitativos. Os fundamentais medem propriedades mecânicas como módulos de elasticidade ou viscosidade (BURITI, CARDARELLI e SAAD, 2008; ROSENTHAL, 1999). Os empíricos medem propriedades mecânicas de compressão, tração, cisalhamento, escoamento e extrusão (BRENNAN, 1988). Já os métodos imitativos simulam as condições em que o alimento é submetido no sistema oral, durante o processo de mastigação.

Na interação com o controle de qualidade, a análise sensorial torna-se insubstituível no desenvolvimento de especificações, quando não é possível utilizar medidas físicas e químicas, para definir propriedades efetivamente subjetivas e que são fundamentais à aceitação e preferência do consumidor (QUEIROZ e TREPTOW, 2006).

Por meio da análise sensorial, as características ou propriedades de interesse relativas à qualidade sensorial do alimento são identificadas e adequadamente estudadas com base em metodologias sensoriais de coleta de

dados e em métodos estatísticos de avaliação e interpretação dos resultados (DELLA LUCIA, MINIM e CARNEIRO, 2006).

Dentre os métodos sensoriais analíticos utilizados em alimentos, a Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) proporciona uma completa descrição de todas as propriedades sensoriais de um produto, representando um dos métodos mais complexos e sofisticados para a caracterização sensorial de atributos importantes (STONE et al., 1998).

Esse método é normalizado pela ABNT (1998), o qual utiliza escalas não estruturadas de 9 a 15 cm, ancoradas nos extremos com termos que indicam a intensidade do atributo que está sendo avaliado. A aplicação da ADQ envolve as seguintes etapas: seleção de julgadores, levantamento dos descritores, treinamento e avaliação das amostras.

Na realidade, o ser humano não se alimenta somente para suprir seu organismo no aspecto nutricional, e sim por prazer. Portanto, o produto deve apresentar atributos sensoriais que o agradem, tais como textura, aspecto, aroma, sabor, entre outros. Geralmente, o consumidor, na sua maioria, busca primeiramente o sabor do alimento, em seguida há uma preocupação em relação aos aspectos nutritivos e por último o preço, apesar deste, muitas vezes, ser fator decisivo na hora da compra. Logo, a análise sensorial ainda necessita do conhecimento de outras áreas, como psicologia e fisiologia, que podem facilitar a compreensão do comportamento dos provadores treinados e da população consumidora como um todo (PEDRÃO e CORÓ, 1999).

2.9 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

O planejamento experimental é uma técnica para o melhoramento de processos e produtos, minimizando custos e tempo, e visando maximizar rendimento e produtividade (RODRIGUES e IEMMA, 2005).

Um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), ou fatorial em estrela, é uma ampliação do experimento já existente acrescentando um planejamento idêntico, porém girado de 45 graus em relação à orientação de partida, isto é, novos pontos são adicionados a uma distância = $(2)^{1/4}$ do ponto central,

conhecido como pontos axiais, tornando o planejamento ortogonal. Esse planejamento deve ser utilizado quando se quiser verificar a curvatura de um plano, ou seja, verificar a existência de termos quadráticos no modelo de regressão (RODRIGUES e IEMMA, 2005; BARROS NETO, SCARMINIO e BRUNS, 2002).

No DCCR pode ser observada a relação funcional entre os fatores para a resposta desejada para um modelo quadrático. O modelo pode ser obtido de duas formas, com uma equação que corresponde ao modelo completo, onde todos os fatores e suas interações são considerados, independentes do valor de p , ou seja, são considerados os fatores que possuem ou não significância, e outra equação que considera apenas os fatores e as interações que apresentam significância ($p < 0,05$). Os fatores marcados com L, correspondentes ao termo linear, e os marcados com Q correspondente ao termo quadrático. A diferença entre o modelo completo e o modelo simplificado baseia-se na precisão dos valores preditos, ou seja, quando se utiliza o modelo completo, o valor estimado possui maior proximidade ao valor observado. Já o modelo simplificado fornece um valor com maior desvio do valor observado, porém compreendido no IC (intervalo de confiança) de 95% (RODRIGUES e IEMMA, 2005).

Planejamentos de mistura são desejáveis para produtos alimentares que requerem mais que um ingrediente; para diferentes proporções de ingredientes na mistura, com níveis dependentes entre si e com a soma de todos os componentes igual a 1% ou 100% (SILVEIRA e LEITE, 2010; HARE, 1974).

Nos delineamentos de misturas, os fatores estão representados pelas suas proporções na mistura e seus níveis não são independentes do restante. Assim, essa metodologia inclui os passos descritos para superfície de resposta. O sistema de coordenadas para as proporções da mistura designa-se como uma coordenada *simplex*. Para três ingredientes, um sistema triangular de coordenadas define o espaço experimental e, assim, o efeito será definido como uma superfície de resposta representada por um gráfico triangular tridimensional (DE PENNA, 1999).

Uma dificuldade que pode ser encontrada em experimentos para misturas é que alguns dos componentes estão sujeitos a limite superior e/ou inferior. Tais limites podem produzir regiões com formas diferenciadas para qual é impossível utilizar alguns delineamentos (LOBATO, BENASSI e GROSSMANN, 2012).

Quando se deseja explorar somente uma região limitada do delineamento, uma abordagem alternativa é substituir os componentes linearmente dependentes

da mistura por uma adequada transformação, resultando no que se costuma chamar de pseudocomponentes, ou seja, uma vez introduzidas limitações inferiores nos componentes de uma determinada mistura, passa a ser conveniente redefinir as coordenadas da sub-região formada. Os pseudocomponentes, como o próprio nome diz, são falsos componentes definidos como combinações dos componentes originais. A principal razão para a introdução deles é que o planejamento e o ajuste dos modelos são bem mais fáceis num sistema de pseudocomponentes do que num sistema de componentes originais (CORNELL, 2002; STEINBERG e HUNTER, 1984; CORNELL, 1984).

Diferentemente dos planejamentos tradicionais, nos experimentais para o estudo de misturas, a variável de resposta é função somente das proporções relativas dos ingredientes presentes na mistura e não da quantidade total da mistura. Além disso, as proporções dos diversos componentes de uma mistura não são independentes. Pode-se ainda estabelecer limites inferiores e superiores das proporções dos componentes nas misturas (FARAONI et al., 2012).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

O micro-organismo utilizado, para a fermentação dos grãos de trigo, foi o *Agaricus brasiliensis* de cultura comercial, linhagem 02LBC. A cepa foi repicada para tubos de ensaio com Agar BDA (Batata Dextrose Agar), incubado a 30 ± 1 °C por 10-12 dias, armazenada a temperatura ambiente (25 ± 1 °C) e repicada a cada três meses (LEIFA et al., 2003). Esta cepa foi armazenada na micoteca do Laboratório de Bioprocessos de Cogumelos – DEALI – UNICENTRO.

Os reagentes utilizados para o desenvolvimento da pesquisa são de procedência idônea e P.A. (padrão analítico).

3.2 PREPARO DO PRÉ-INÓCULO PARA O CULTIVO SUBMERSO

Para o preparo do pré-inóculo, foi utilizada a metodologia seguida por Dalla Santa et al. (2010). O pré-inóculo foi preparado em meio composto por (g.L⁻¹): glicose (20), extrato de levedura (3,95), MgSO₄.7H₂O (0,3) e K₂HPO₄.3H₂O (0,5); com pH ajustado a 6,0 ($\pm 0,2$) em potenciômetro com NaOH (0,1 M). O meio foi acondicionado em frasco Erlenmeyer (250 mL), na proporção de 50 mL por frasco, esterilizado a 121 °C, pressão de 1 atm, durante 15 min, em autoclave vertical. A inoculação foi realizada em câmara de fluxo laminar.

A partir dos tubos de ensaio contendo meio BDA, cinco quadrados (1 cm²) de Agar com micélio foram cortados com auxílio de alça de platina e transferidos para os frascos contendo o meio. A incubação foi realizada sob agitação de 120 rpm em incubador rotatório tipo *shaker* Tecnal, à temperatura de 30 °C, por um período de sete dias.

O micélio foi filtrado em tela (malha de 0,5 mm²) e, com auxílio de uma espátula, essa biomassa foi passada suavemente através da tela com 50 mL de

água destilada esterilizada. A suspensão de micélio quebrado foi denominada de pré-inóculo.

3.3 PREPARO DO INÓCULO PARA O CULTIVO SUBMERSO

O inóculo foi preparado em frascos Erlenmeyer de 1 L, com 500 mL do meio estéril composto igual ao descrito no item 3.2.

O meio foi inoculado, em câmara de fluxo laminar, com 10% do pré-inóculo e incubado durante sete dias, temperatura de 30 °C, sob agitação de 120 rpm.

A suspensão de micélio de *A. brasiliensis* foi obtida por filtração em tela (malha de 0,5 mm²) utilizando 500 mL de água estéril destilada para lavagem da biomassa. Com uso de espátula, o micélio obtido foi ligeiramente rompido e passado por meio da peneira, com auxílio de água destilada estéril (na proporção de 1:1 água destilada estéril para cultivo submerso), a fim de obter uma suspensão de micélio rompida (DALLA SANTA et al., 2010), sendo essa suspensão utilizada na inoculação tanto no cultivo submerso quanto no sólido, sendo utilizado o cultivo submerso para a produção de inóculo para o cultivo sólido, bem como para verificação do crescimento da biomassa do micro-organismo.

3.3.1 Enriquecimento com minerais – cobre, zinco, cálcio e selênio

Antes da esterilização do meio (item 3.3), foram adicionados os minerais zinco, cobre, cálcio e selênio. Sendo os minerais padrões analíticos: zinco ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) e cálcio (CaCl_2). O selênio (na forma de Se quelato com glicina) foi adquirido em farmácia de manipulação de Guarapuava-PR, envelopes metalizados com 0,60 mg de selênio quelato. As faixas de quantidades utilizadas desses minerais são apresentadas na TABELA 3.

Para a adição de minerais, foi utilizado o delineamento estatístico Composto Central Rotacional (DCCR) (BARROS NETO, SCARMINIO e BRUNS, 2002), a fim

de se avaliar a influência da concentração de minerais no aumento da biomassa obtida nas fermentações.

Neste estudo foram realizados três planejamentos DCCR, sendo planejamento fatorial completo 2^n ($n=2$), com três pontos centrais e pontos axiais, totalizando 11 experimentos.

As distâncias dos pontos axiais foram $\pm 1,41$, calculados pela EQUAÇÃO 1, onde α é a distância dos pontos axiais e n é o número de variáveis independentes.

$$\alpha = (2n)^{1/4} \quad (\text{EQUAÇÃO 1})$$

Os dados foram tratados com o auxílio do software STATISTICA 7.1 (Statsoft).

A TABELA 3 apresenta o Delineamento Composto Central Rotacional utilizado para avaliar a influência da adição de minerais na produção de biomassa de *A. brasiliensis* por fermentação submersa.

TABELA 3 – DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL UTILIZADO PARA A ADIÇÃO DE MINERAIS NOS CULTIVOS SUBMERSOS COM *Agaricus brasiliensis*

Ensaio	Níveis Codificados	
	X_1	X_2
1	-1	-1
2	1	-1
3	-1	1
4	1	1
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	-1,41	0
9	1,41	0
10	0	-1,41
11	0	1,41

NOTA: X_1 e X_2 – variáveis

Os níveis dos minerais escolhidos foram baseados em estudos prévios realizados. A faixa de variação para as variáveis independentes é apresentada na TABELA 4.

TABELA 4 – FAIXAS ESTUDADAS DOS MINERAIS ADICIONADOS NOS CULTIVOS SUBMERSOS COM *Agaricus brasiliensis*

Ensaio	Faixas estudadas (mg.L ⁻¹)			
	Zn	Cu	Se	Ca
1ª fermentação	10,00 – 50,00	0,70 – 10,00	0	0
2ª fermentação	0	0	0,36 – 11,60	1,80 – 58,20
3ª fermentação	0 – 30,00	0 – 5,35	0 – 6,00	0 – 30,00

Nota: Zn (zinco), Cu (cobre), Se (selênio), Ca (cálcio)

3.4 CULTIVO SUBMERSO DE *Agaricus brasiliensis*

Para o cultivo submerso, utilizou-se a mesma metodologia de preparo do inóculo (item 3.3), utilizando meio composto (g.L⁻¹): glicose (20), extrato de levedura (3,95), MgSO₄.7H₂O (0,3), KH₂PO₄.3H₂O (0,5) e pH ajustado a 6,0 (±0,2) com ácido láctico (10% v/v) ou NaOH (0,1 M). Esse cultivo foi conduzido em frascos Erlenmeyers (volume de 250 mL) contendo 100 mL de meio composto esterilizado a 121 °C, pressão de 1 atm, durante 15 min, em autoclave vertical (DALLA SANTA et al., 2010).

Após resfriamento em temperatura ambiente (25±1 °C), os frascos Erlenmeyers com meio composto estéril foram inoculados, em câmara de fluxo laminar, com suspensão de micélio na concentração de 5% (v/v), incubados a 30 °C por 7 dias a 120 rpm em incubador rotatório de bancada.

3.4.1 Extração de biomassa de *Agaricus brasiliensis*

Após o período de incubação, o meio de cultivo contendo o micélio foi filtrado em papel filtro Whatmann N° 1 previamente pesado, lavado com água destilada estéril, por três vezes, e seco a 60 °C, até peso constante, em estufa com circulação de ar. O extrato líquido obtido da filtração foi reservado. Em seguida, a biomassa foi pesada em placas previamente higienizadas e pesadas.

3.4.2 Extração de exopolissacarídeo (EPS)

Ao extrato líquido reservado (item 3.4.1) foram adicionados dois volumes de álcool etílico (96 °GL) para precipitação dos polissacarídeos. A suspensão foi armazenada a 4 °C por 12 horas (LIU e WANG, 2007), posteriormente centrifugada a 8000xg por 15 min em centrífuga refrigerada. O líquido sobrenadante foi descartado. Ao tubo da centrífuga, foi adicionado álcool etílico (96 °GL) e novamente centrifugado. Após centrifugação, o precipitado foi lavado com álcool etílico absoluto e submetido a tratamento com acetona P. A. O excesso de acetona foi evaporado a 30 °C, por 24 horas, em estufa com circulação de ar, e o pó resultante foi pesado em balança analítica, para determinação do peso seco e cálculo do rendimento (RUBEL et al., 2011; YANG e LIAU, 1998).

3.5 CULTIVO SÓLIDO DE *Agaricus brasiliensis* EM GRÃOS DE TRIGO

3.5.1 Preparo do substrato

Os grãos de trigo (*Triticum aestivum* L.), cultivar CD 105, utilizados como substrato no cultivo sólido e posteriormente na elaboração das barras de cereais foram doados pela Cooperativa Agrária Agroindustrial, de Entre Rios, Guarapuava-PR.

O cultivo de *A. brasiliensis* foi realizado com grãos de trigo inteiros. O trigo em grãos foi inicialmente lavado e imerso em água limpa por 12 horas para absorção de água. Após escoamento do excesso de água, o substrato foi acondicionado em embalagens de polipropileno autoclaváveis, adicionados de um quadrado de espuma na parte superior e amarrados com elástico de borracha, cobertos com papel Kraft e esterilizado a 121 °C a pressão de 1 atm, durante 45 min em autoclave. Após o processo de esterilização, as embalagens de polipropileno foram colocadas em estufa a 100 °C para secagem do papel a fim de evitar contaminações e, em seguida, resfriados a temperatura ambiente (25±1 °C) (DALLA SANTA et al., 2012).

3.5.2 Inoculação do substrato sólido

Amostras do substrato esterilizado foram retiradas para análise de umidade e de atividade de água (A_w) antes da inoculação (PANDEY, 2003). A inoculação foi realizada em câmara de fluxo laminar com o inóculo preparado conforme descrito no item 3.3, na concentração de 5% (v/m) de micélio por kg de trigo. A fermentação em estado sólido foi realizada em temperatura de 30 °C por 21 dias em estufa com temperatura controlada.

3.5.3 Trigo fermentado com *A. brasiliensis* por cultivo sólido e enriquecido com minerais

O processo de cultivo no estado sólido descrito no item 3.5.2 gera um produto fermentado sólido, porém úmido e compacto. Desse modo, o produto passou por uma secagem em estufa com circulação de ar em temperatura controlada de 55 °C por 24 horas. Posteriormente triturado, em liquidificador industrial, para a obtenção da farinha contendo o micélio fragmentado. A farinha obtida passou por peneiramento em sistema vibratório de peneiras com granulometria <0,5 mm.

3.6 DOSAGEM DE ERGOSTEROL

O ergosterol foi extraído e dosado conforme estudos de Carvalho et al. (2006), com algumas adaptações baseadas em Dalla Santa et al. (2012) como descrito, a seguir: amostras de 0,25 g do micélio fermentado foram misturados com 2 mL de metanol e 0,5 mL de NaOH 2 mol.L⁻¹, bem vedados e homogeneizados por 30 s no agitador de tubos. O material foi saponificado a 80 °C/1 h e após resfriamento a temperatura ambiente (25±1 °C), foi adicionado 0,85 mL HCl 1 mol.L⁻¹

e 2 mL de KHCO_3 1 mol.L⁻¹, sempre com agitação por 30 s após cada adição de reagente.

Em seguida, foram adicionados 2 mL de hexano, nova agitação por 30 s no agitador de tubos, seguido de centrifugação a 3000 g por 2 min e coleta da fase leve. A etapa de lavagem e extração do ergosterol com o hexano foi repetida mais duas vezes, com 2 e 1 mL. Ao hexano coletado foram adicionados 2 g de sulfato de sódio anidro seguido de nova agitação por 15 s e repouso por 30 min. A solução foi filtrada em papel Whatmann Nº 1 e o hexano evaporado em estufa com circulação de ar a 30 °C, em seguida os frascos foram bem vedados e armazenados a -18 °C até quantificação da amostra.

A análise foi realizada após resuspensão do ergosterol em alíquota de hexano, ultra-sonificação e leitura em espectrofotômetro UV-Vis (Jasco) a 281,5 nm. A recuperação do ergosterol foi de aproximadamente 52%.

A concentração de ergosterol estimada na amostra foi obtida pela EQUAÇÃO 2, adaptada de Dalla Santa et al. (2012).

$$Q(\text{mg}) = \frac{(A_{281,5\text{nm}} \times V \times 396)}{11500} \quad (\text{EQUAÇÃO 2})$$

Onde, Q é o conteúdo de ergosterol (mg.g⁻¹ em base seca), 396 é a massa molar do ergosterol (g.mol⁻¹), V é o volume resuspendido (L) e 11500 é o coeficiente de extinção molar (L.mol⁻¹.cm⁻¹ a 281,5 nm em hexano).

3.7 ELABORAÇÃO DAS BARRAS DE CEREAIS

Os ingredientes básicos utilizados para formular as barras de cereais foram: flocos de arroz tipo *krispis*, aveia em flocos, gergelim branco, coco ralado, gordura vegetal, lecitina de soja, xarope de glicose, açúcar mascavo e sal (QUEIROZ et al., 2012; ROBERTO, 2012).

Para a elaboração das barras de cereais com trigo fermentado com *A. brasiliensis* e minerais, utilizou-se planejamento experimental, a fim de estudar os

possíveis efeitos dos ingredientes pré-determinados nas propriedades físicas, químicas e sensoriais dos produtos elaborados. Para tanto, foi utilizado o delineamento *simplex-centroide* para misturas de três componentes aumentado de pontos, totalizando 10 ensaios. O delineamento experimental utilizado para a elaboração das barras de cereais está apresentado na TABELA 5.

TABELA 5 – DELINEAMENTO EXPERIMENTAL PARA MISTURAS *SIMPLEX-CENTROIDE* PARA AS TRÊS VARIÁVEIS AVEIA, GERGELIM E TRIGO FERMENTADO COM *Agaricus brasiliensis* E MINERAIS

Experimento	Níveis codificados			Níveis decodificados (%)		
	x_1	x_2	x_3	AV	GE	TR
1	1,00	0	0	20,00	0	0
2	0	1,00	0	0	20,00	0
3	0	0	1,00	0	0	20,00
4	0,50	0,50	0	10,00	10,00	0
5	0,50	0	0,50	10,00	0	10,00
6	0	0,50	0,50	0	10,00	10,00
7	0,33	0,33	0,33	6,66	6,66	6,66
8	0,66	0,16	0,16	13,33	3,33	3,33
9	0,16	0,66	0,16	3,33	13,33	3,33
10	0,16	0,16	0,66	3,33	3,33	13,33

Nota: AV (aveia), GE (gergelim), TR (trigo fermentado com *A. brasiliensis* e minerais).

Delineamentos para misturas vêm sendo muito usados para experimentos como desenvolvimento de produtos alimentícios, sendo já utilizados por alguns pesquisadores como Faraoni et al. (2012), Sriwattana, Laokuldilok e Prinyawiwatkul (2008) e Dutcosky et al. (2006).

As variáveis estudadas foram as concentrações de aveia em flocos (AV), gergelim branco (GE) e trigo fermentado com *A. brasiliensis* com minerais (TR). O nível máximo de cada variável foi de 20% e o mínimo zero, ou seja, ausência. A aveia e o gergelim foram escolhidos como variáveis de estudo em testes preliminares devido às características sensoriais verificadas quando se dá a utilização desses ingredientes.

A formulação controle (padrão) foi elaborada com ausência de trigo fermentado com *A. brasiliensis* e minerais, constituídas dos ingredientes básicos e com 16,3% de aveia em flocos e 3,7% de gergelim branco. Neste estudo denominou-se a amostra controle de amostra 11.

O processo de elaboração das barras de cereais consistiu da caramelização da aveia com 50% do açúcar mascavo; aquecimento da calda aglutinante, formada por xarope de glicose, 50% do açúcar mascavo, lecitina de soja e gordura vegetal; mistura dos ingredientes secos; mistura da calda aglutinante, aveia caramelizada e ingredientes secos. Posterior laminação e modelagem, com moldes comerciais para barras de cereais; resfriamento por duas horas. Por último, as barra de cereais foram padronizadas no corte, com o seguinte formato: comprimento (900 mm), largura (300 mm), altura (150 mm), sendo imediatamente embaladas em papel alumínio e armazenadas em local seco e arejado. Cada barra de cereal pesou em média $25 \text{ g} \pm 0,108$.

As barras de cereais elaboradas neste estudo são apresentadas na FIGURA 4.

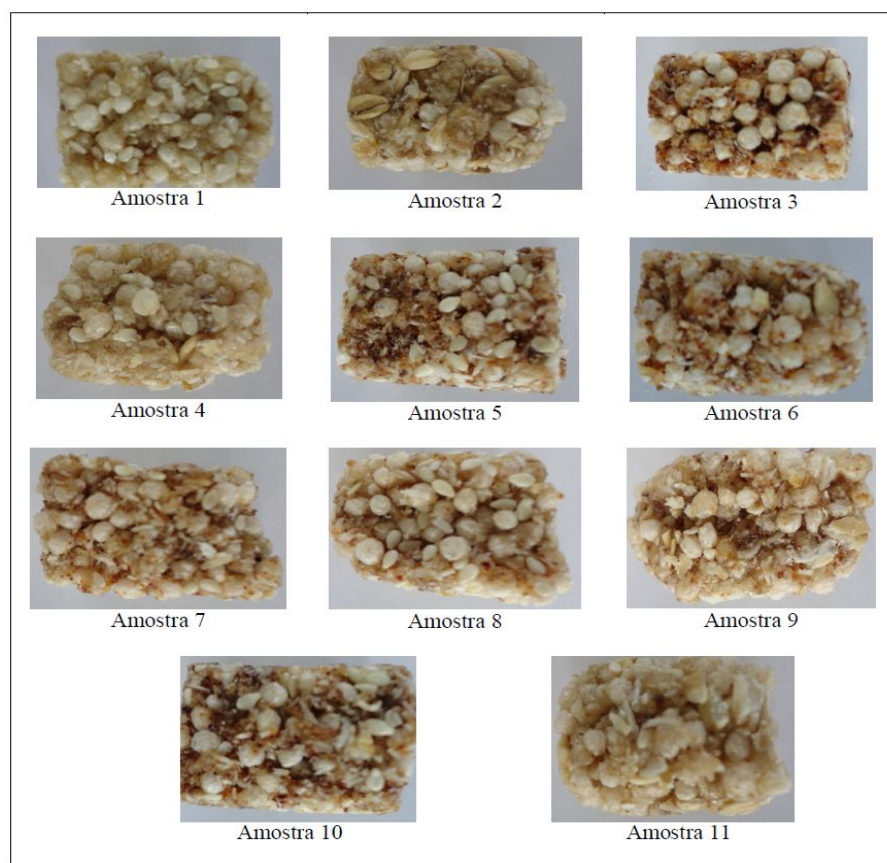


FIGURA 4 - FOTOGRAFIAS DE FRAGMENTOS DAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS DE ACORDO COM O DELINEAMENTO *SIMPLEX-CENTROIDE*
NOTA: Amostra 11 – controle

3.8 DOSAGEM DE BETA-GLUCANAS

A determinação de beta-glucanas foi realizada em triplicata conforme metodologia descrita por Papaspyridi et al. (2011 b) e Park et al. (2003). Esse método consiste em hidrólises enzimáticas e químicas.

A porcentagem de β -glucanas foi determinada quantitativamente com um kit de determinação de β -glucanas para cogumelos e leveduras K-YBGL 09/2009 da Megazyme (Megazyme Internacional Ireland Ltd., Wicklow, UK) de acordo com as instruções do fabricante.

Para determinação das glucanas totais, as amostras de trigo *in natura*, trigo fermentado e barras de cereais foram trituradas, pesadas ($0,1 \text{ g} \pm 0,01$) e passadas em peneiras vibratórias de *mesh* $<0,5 \text{ mm}$ ($n = 3$); sendo hidrolisadas com $1,3 \text{ M}$ de HCl a 100°C durante 2 h . Depois o pH foi neutralizado com 2 M de KOH. Para determinação das glucanas totais (α e β) uma alíquota de $0,1 \text{ mL}$ foi digerida com exo- $1,3\text{-}\beta$ -glucanase (100 U.mL^{-1}) com β -glucosidase (20 U.mL^{-1}) em 200 mM de tampão de acetato de sódio (pH 5,0). Os hidrolisados foram incubados com uma mistura de invertase (500 U.mL^{-1}), glicose oxidase ($> 12.000 \text{ U.L}^{-1}$), a 40°C durante 1 h . A absorbância da solução foi medida em quintuplicata a 510 nm .

Para a determinação da α -glucana, as amostras pesadas ($0,1 \text{ g} \pm 0,01$) e passadas em peneiras vibratórias de *mesh* $<0,5 \text{ mm}$ ($n = 3$), a cada amostra pesada uma amostra par foi armazenada para realização da determinação de umidade.

As amostras foram dissolvidas em 2 M KOH, hidrolisadas e adicionado $1,2 \text{ M}$ de tampão de acetato de sódio (pH 3,8), as amostras seguiram para banho de gelo sob agitação constante por 20 min . Amiloglucosidase (1630 U.mL^{-1}) e invertase (500 U.mL^{-1}) foram adicionados à solução e incubadas a 40°C durante 30 min . A alíquota foi incubada com uma mistura de glicose oxidase ($> 12.000 \text{ U.L}^{-1}$) e peroxidase ($> 650 \text{ U.L}^{-1}$), a 40°C durante 20 min . A absorbância da solução foi medida em quintuplicata a 510 nm .

A EQUAÇÃO 3 foi utilizada para o cálculo do conteúdo de beta-glucanas, onde este foi calculado pela diferença entre o conteúdo de glucanas totais e alfa-glucana.

$$\beta\text{-glucanas} = \text{glucanas totais} - \alpha\text{-glucanas} \quad (\text{EQUAÇÃO 3})$$

3.9 DETERMINAÇÃO DE ANTIOXIDANTES

3.9.1 Extração etanólica

A metodologia utilizada para extração etanólica foi adaptada de Larrauri, Rupérez e Saura-Calixto (1997). As amostras de trigo *in natura*, trigo fermentado e barras de cereais foram trituradas e peneiradas em tamis. Amostras com granulometria inferior a 0,250 mm foram pesadas (0,1 g, n=6) e então extraídas com etanol 50% v/v (1,5 mL) por 5 min em vórtex. Uma amostra par de cada pesagem foi armazenada para determinação de umidade.

A mistura (amostra + etanol) foi centrifugada (19975 x g, 15 min) em microcentrífuga refrigerada e o sobrenadante recolhido em balão volumétrico. A extração foi repetida, com o sobrenadante adicionado ao mesmo balão, completando-se para 5 mL com etanol.

3.9.2 Determinação do resíduo seco

A quantificação do resíduo seco dos extratos foi determinada por método gravimétrico (IAL, 2008). Cinco alíquotas (5 mL) desses extratos foram colocadas em placas de Petri devidamente higienizadas, pesadas e submetidas a 40 °C em estufa de secagem por 24 h. As placas foram retiradas da estufa, resfriadas em dessecador e pesadas. As placas foram novamente colocadas em estufa por mais 24 h e o processo foi repetido até peso constante, obtendo então o resíduo seco em mg.mL^{-1} de extrato. Esses resultados foram usados para expressar o conteúdo de fenólicos totais e a atividade antioxidante em base seca.

3.9.3 Capacidade antioxidante total

A capacidade antioxidante total foi determinada nos grãos de trigo, trigo fermentado e nas barras de cereais elaboradas. Essa análise foi realizada pelo método do fosfomolibdênio, que se baseia na determinação espectrofotométrica da redução do molibdênio Mo^{+4} a Mo^{+5} , com formação subsequente de fosfato de Mo^{+5} , que apresenta absorção máxima a 695 nm.

Alíquotas de 0,1 mL dos extratos (10 mg.mL^{-1}) dissolvidas em água destilada a 1% (frações) foram combinadas, em tubo *Eppendorf*, com 1 mL da solução reagente (ácido sulfúrico 600 mM, fosfato de sódio 28 mM e molibdato de amônio 4 mM). Os tubos foram fechados e incubados a 95 °C por 90 min.

Após resfriamento, a temperatura ambiente (25 ± 1 °C), foi determinada a absorbância a 695 nm em espectrofotômetro Spectrumlab-22 PC. O trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-ácido carboxílico, composto análogo à vitamina E) foi utilizado como padrão, e a capacidade antioxidante total foi expressa como capacidade antioxidante equivalente à do trolox (CAET) por 100 g de resíduo seco (YADAV et al., 2013; PRIETO, PINEDA e AGUILAR, 1999).

3.9.4 Determinação de compostos fenólicos totais

O conteúdo de polifenóis totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON e ROSSI, 1965) adaptado por Soares et al. (2009).

Cada fração do extrato (0,1 mL) foi misturada com 8,4 mL de água destilada e 0,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu (0,25 M). Agitação e repouso de 3 minutos para reagir. Ao extrato foi adicionado 1 mL de carbonato de sódio 20% (m/v), e novamente agitado e mantido em repouso por 1 hora para reagir. A absorbância foi mensurada a 720 nm em espectrofotômetro Spectrumlab-22 PC. O conteúdo de fenólicos totais foi expresso em mg equivalentes em ácido gálico (EAG) por 100 g de resíduo seco.

3.10 DETERMINAÇÃO DE MINERAIS

A quantificação de zinco, cobre, selênio e cálcio foi realizada em espectrofotômetro de absorção atômica (Varian, modelo SpectrAA-200, Mulgrave, VC, Austrália) com operação manual de injeção das amostras. Os parâmetros instrumentais são apresentados na TABELA 6. Todas as medidas de absorbância foram realizadas no modo integração de área e as amostras preparadas em triplicatas, descontados os seus respectivos brancos. Para efetuar as análises, utilizou-se curva analítica contendo os padrões dos metais avaliados (MATUSIEWICZ, 1997).

TABELA 6 - PARÂMETROS INSTRUMENTAIS PARA DETERMINAÇÃO DE METAIS POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMA

Metais	λ^* (nm)	Corrente (mA)	Chama	Equação	R ²	LD** (mg.L ⁻¹)
Zn	213,9	5,0	Ar/C ₂ H ₂	$y=0,213x+0,137$	0,999	0,011
Cu	327,4	4,0	Ar/C ₂ H ₂	$y=0,206x+8,386 \times 10^{-5}$	0,999	0,007
Se	196,0	10,0	C ₂ H ₂ /N ₂ O	$y=0,003x+2,321 \times 10^{-4}$	0,997	0,024
Ca	422,7	10,0	C ₂ H ₂ /N ₂ O	$y=0,104x+0,010$	0,999	0,017

NOTA: * λ = comprimento de onda; **LD = limite de detecção (LD = três vezes o desvio padrão estimado da curva analítica); nm = nanômetro; mA = miliampere; R² = coeficiente de determinação.

O material utilizado na análise de minerais foi previamente descontaminado em um banho de ácido nítrico 10% (v/v) durante 24 horas. As amostras foram pesadas $0,5 \text{ g} \pm 0,0001$. A digestão ácida das amostras foi feita com 15 mL de ácido nítrico (HNO₃ PA 65% v/v) em chapa de aquecimento a 100 °C durante uma hora. Às amostras digeridas foram adicionados 2 mL de peróxido de hidrogênio (H₂O₂ P.A. 30% v/v) e o calor foi mantido durante mais uma hora. Posteriormente, foram adicionados de 2 em 2 mL de H₂O₂ até completar 8 mL ou quando se observou a maior transparência das amostras. Em seguida, realizou-se o resfriamento das amostras, avolumando-as com água destilada em balão volumétrico de 50 mL para posterior leitura em espectrofotômetro de absorção atômica (YANG et al., 2012).

Para o cálculo do bioacúmulo de minerais, foi utilizada a EQUAÇÃO 4 (MAPOLELO, TORTO e PRIOR, 2005). Onde C₀ é a concentração inicial de micronutriente no meio, C é a concentração de micronutriente presente no material

avaliado e U% é o rendimento de bioacúmulo do respectivo micronutriente, em porcentagem.

$$U (\%) = [(C - C_0)/C_0] * 100 \quad (\text{EQUAÇÃO 4})$$

3.11 DETERMINAÇÃO DA COR

A análise de cor das barras de cereais foi mensurada pelo sistema CIEL*a*b, em colorímetro com iluminante C ou D65 e ângulo 10°, previamente calibrado. Os parâmetros analisados foram: onde L* define a luminosidade (L* = 0 - preto e L* = 100 - branco) e a* e b* são responsáveis pela cromaticidade (+a* vermelho e -a* verde; +b* amarelo e -b* azul). As análises foram realizadas em quintuplicata. A variação da coloração (ΔE) foi calculada pela EQUAÇÃO 5 (MACDOUGALL, 2002).

$$\Delta E = [(\Delta a)^2 + (\Delta b)^2 + (\Delta L^2)]^{1/2} \quad (\text{EQUAÇÃO 5})$$

3.12 ANÁLISES FÍSICAS, QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS

A determinação da composição física e química foi realizada de acordo com métodos analíticos propostos pela AOAC (2000) e IAL (2008), em triplicata. A determinação de umidade realizada em estufa a 105 °C durante 12 h. O teor de cinzas foi obtido por meio da incineração em mufla a 550 °C por 5 h. A proteína bruta foi determinada pelo método de Kjeldahl (N x 5,70). A metodologia utilizada para determinar a fibra bruta consiste na exposição da amostra à hidrólise ácida e básica. O teor de lipídios foi determinado pelo método de Bligh e Dyer (1959). Os carboidratos foram estimados por diferença, subtraindo-se de cem os valores obtidos para umidade, proteínas, lipídios, fibra alimentar e cinzas. Os açúcares redutores totais foram determinados pela metodologia clássica de Somogyi modificada por Nelson (NELSON, 1944).

Para determinar o valor calórico das barras de cereais, foram considerados os fatores de conversão de Atwater segundo Wilson, Santos e Vieira (1982) de 4 kcal.g⁻¹ de proteína, 4 kcal.g⁻¹ de carboidrato e 9 kcal.g⁻¹ de lipídio.

Segundo a Resolução RDC nº 12/2001 (BRASIL, 2001), que aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos, as análises microbiológicas requeridas para cereais e produtos derivados são: *Bacillus cereus*, Coliformes a 35 e 45 °C. g⁻¹ e *Salmonella sp.*, sendo que os procedimentos microbiológicos seguiram a metodologia proposta por Silva et al. (2010). A interpretação dos resultados obtidos seguiu os critérios microbiológicos estabelecidos na legislação brasileira (BRASIL, 2001).

A determinação da atividade de água foi realizada diretamente, com a utilização de higrômetro (Aqualab Decagon Devices, modelo Série 3TE) à temperatura de 25 °C (SILVA et al., 2009 b).

3.13 ANÁLISE SENSORIAL

3.13.1 Questões éticas

Esta pesquisa teve seu projeto avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO/PR (Registro nº 397279, Parecer nº 002/2011) (ANEXO A).

Aos participantes foram informados detalhes sobre a pesquisa e os procedimentos a serem utilizados, assegurando-se a proteção da privacidade. Esses foram convidados a participar dos testes, sendo selecionados aqueles que manifestaram seu consentimento assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) conforme a Resolução Nº 196/96 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2003 b).

O TCLE foi entregue a cada voluntário, sendo excluído dos testes o participante que não preencheu o termo mencionado (APÊNDICE A).

3.13.2 Testes sensoriais

As barras de cereais foram submetidas à avaliação sensorial para averiguar a preferência, perfil de atitude, perfil de atributos e Análise Descritiva Quantitativa (ADQ). Os julgadores realizaram os testes em cabines individuais, com luz branca, em temperatura ambiente (25 ± 1 °C). Cada julgador recebeu as amostras das barras de cereais em prato descartável branco, codificadas com algarismos de três dígitos escolhidos de forma aleatória, água mineral para limpeza da cavidade bucal entre a avaliação de cada amostra, a ficha do teste correspondente (APÊNDICES B e C). Os testes ocorreram entre as 9 h e 11 h da manhã, e das 14 h e 16 h da tarde (QUEIROZ e TREPTOW, 2006). As amostras foram servidas de forma monádica.

A primeira fase da análise sensorial teve a participação de cinquenta indivíduos, entre alunos, funcionários e professores da Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO), idades entre 17 e 50 anos, resultantes de uma triagem de voluntários que se declararam consumidores de barras de cereais, consumindo, no mínimo, uma barra de cereal por semana.

Nessa fase foi aplicado testes de preferência, o qual foi subdividido em três sessões (sessão “1”: o julgador recebeu 4 amostras, sessão “2”: 4 amostras e sessão “3”: 3 amostras). A ficha que acompanhou o teste foi a escala hedônica de nove pontos e numérica (MEILGAARD, CIVILLE e CARR, 1991), tendo como limites um (desgostei extremamente) e nove (gostei extremamente).

Para o teste de Perfil de atributos (aparência, cor, aroma agradável, sabor doce e textura), foi utilizada uma escala estruturada de nove pontos ancorada nas extremidades, na qual os julgadores assinalam na escala a sensação percebida, sendo o escore mínimo um (péssimo) e o máximo nove (excelente).

O teste de Perfil de Atitude foi realizado de acordo com Meilgaard, Civille e Carr, (1991), nesse teste deve-se fazer uma pergunta ao julgador como: “Qual amostra ele consumiria?” E solicita-se aos julgadores para indicar qual amostra consumiria.

No final da primeira etapa, foram selecionados os julgadores para a etapa subsequente, ou seja, a Análise Descritiva Quantitativa (ADQ).

A seleção dos julgadores ocorreu por meio da aplicação do teste de reconhecimento de gostos básicos: doce (2,0% sacarose), ácido (0,07% ácido

cítrico), salgado (0,2% cloreto de sódio) e amargo (0,07% cafeína), concentrações adaptadas de IAL (2008). O critério de seleção foi de 100% de acerto nos testes. As soluções foram servidas em copos plásticos descartáveis, codificados com números de três dígitos aleatórios.

Os julgadores que participaram do treinamento com as amostras que representavam o atributo (nas extremidades) a ser analisado foram convidados a gerar seus próprios termos para descrever as similaridades e as diferenças entre os atributos e a definição de cada um dos descritores. Na sequência solicitou-se aos julgadores para agrupar a similaridades e chegar a um consenso quanto aos atributos e seus significados resultando na construção de um glossário. Os materiais de referência foram providenciados para cada termo descritivo levantado visando o treinamento dos julgadores e a padronização de cada atributo.

A geração dos descritores foi realizada de acordo com Stone e Sidel (1985). As amostras foram apresentadas aos pares, em todas as possíveis combinações, aos julgadores. Esses descreveram as similaridades e diferenças entre cada par de amostras com relação à aparência (brilho e compactação), aroma (aroma de coco), sabor (sabor doce e sabor residual de fermentado), audição (crocância) e textura (firmeza). Para o sabor residual, quanto maior a nota atribuída julgou-se que mais agradável seria esse atributo. A atribuição de notas maiores para menor sabor residual foi uma sugestão do próprio grupo de julgadores, a fim de felicitar o processo de julgamento das amostras. Também foi solicitado a cada julgador que contasse o número de mastigadas necessárias para reduzir uma amostra de 2 cm³ à consistência adequada para degluti-la, a esse atributo denominado de “mastigabilidade”, sendo instruído o julgador a contar uma mastigada por segundo (DUTCOSKY, 2011).

Após as avaliações individuais, os julgadores foram reunidos e foi providenciada a descrição dos termos levantados pela equipe. Em seguida, de posse da lista de termos descritivos levantados, sob a supervisão do líder da equipe, os julgadores discutiram o significado de cada termo, agruparam termos sinônimos. Assim, após a realização de várias sessões, uma ficha de avaliação, uma lista de referências e uma definição de cada termo descritivo foram obtidas pelo consenso da equipe sensorial.

Um treinamento com os selecionados consistiu de cinco sessões, sendo que na primeira foram treinados para os atributos de aparência e aroma, na segunda

para sabor doce e textura e nas demais sessões para todos os atributos, sendo que na última sessão foi solicitado que os mesmos avaliassem uma amostra comercial a fim de se familiarizarem com o uso da escala. A escala utilizada foi uma escala linear não estruturada de 9 cm ancorada nos pontos extremos, à esquerda pelo termo “nenhum” e à direita “muito intenso”.

A ficha de avaliação sensorial da ADQ foi a mesma utilizada para o treinamento, uma vez que os julgadores já estavam familiarizados com a escala. Desse modo, a ficha continha uma escala não estruturada de 9 cm, para cada termo descritivo levantado, com expressões quantitativas na extremidade esquerda (equivalente ao valor um) e direita (equivalente ao valor nove) com os termos: “nenhum” e “muito intenso”, respectivamente. Os julgadores devem assinalar com um traço vertical na escala a sensação percebida para cada termo descritivo. Os dados são obtidos medindo-se a distância, em centímetros, entre os pontos-âncoras da extremidade esquerda e o traço vertical feito pelo julgador.

3.14 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os resultados, obtidos no presente estudo, foram obtidos em triplicata ou quintuplicata e foram analisados por Análise de Variância (ANOVA), sendo reportados na forma de média e desvio padrão. As médias foram submetidas ao teste de comparação de médias, pelo teste de Tukey, ao nível de significância de 5%, utilizando o software Statistica 7.0 (STATSOFT SOUTH AMERICA, Michigan, USA).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

Um dos fatores determinantes para a escolha do grão de trigo foi o do Estado do Paraná ser o maior produtor do Brasil. Segundo dados da DERAL/SEAB, na safra 2009/10, foram produzidos 3 milhões de toneladas de trigo em uma área de 1,15 milhões de hectares e produtividade média de 2,6 toneladas por hectare (MAGGIAN, RIBEIRO e FELIPE, 2010).

Outro fator determinante foi o fato do trigo já ter sido utilizado para fermentação no estado sólido, fato relatado por vários autores, inclusive por Dalla Santa et al. (2009), que realizaram estudos para avaliar o efeito da ingestão do micélio de *A. brasiliensis* produzido sobre o trigo integral no metabolismo lipídico de camundongos na ausência e presença do Sarcoma-180, bem como a ação imunomoduladora.

Os resultados das análises da caracterização do trigo fermentado e trigo *in natura* estão apresentados na TABELA 7.

TABELA 7 – CARACTERIZAÇÃO DO TRIGO *IN NATURA* E DO TRIGO FERMENTADO COM *Agaricus brasiliensis* ADICIONADO DE MINERAIS

Parâmetro analisado	Trigo <i>in natura</i>	Trigo fermentado com <i>A. brasiliensis</i> adicionado de minerais
Proteínas (%)	14,97±0,07 b	26,13±0,72 a
Lipídios (%)	1,59±0,08 b	2,20±0,13 a
Fibra bruta (%)	2,97±0,17 b	3,46±0,10 a
Cinzas (%)	2,20±0,11 b	2,82±0,07 a
Carboidratos (%)	69,08±0,11 a	54,26±0,77 b
Valor calórico (kcal. 100 g ⁻¹)	395,89	401,28

NOTA: Os resultados obtidos estão apresentados na forma de média ± desvio padrão (n=3), em base seca. Letras iguais na mesma linha não diferem significativamente (p<0,05).

Observando os dados apresentados na TABELA 7, verifica-se que todos os parâmetros analisados apresentaram diferença estatística (p<0,05). Foi possível verificar que o grão de trigo fermentado apresentou maiores teores de proteínas, lipídios, fibras e cinzas. Os teores de carboidratos diferiram entre si, esses resultados foram obtidos descontando-se a umidade média, que para o trigo *in*

natura foi de $9,95 \pm 0,01\%$, e para o trigo fermentado com *A. brasiliensis* adicionado de minerais $11,11 \pm 0,01\%$. Ambos os valores de umidade diferem entre si (IC = 95%).

Carneiro et al. (2011) realizaram caracterização química em corpos de frutificação de *A. blazei* obtendo 44,40% de carboidratos, 33,30% de proteínas, 33,30% fibras (em base seca). O corpo de frutificação possui teores mais elevados de proteínas e fibras que o trigo fermentado, uma vez que o cereal fermentado é inoculado com uma fração de biomassa do *A. brasiliensis*. Chang et al. (2001) determinaram a composição centesimal do micélio de *A. blazei*, obtendo as seguintes porcentagens: 42,40 de carboidratos, 26,40 de fibras, 15,60 de proteínas, 9,68 de lipídios e 5,90 de cinzas.

Dalla Santa et al. (2010) fermentaram grãos de trigo com *A. brasiliensis* a fim de avaliar o seu efeito imunomodulador e o metabolismo lipídico de camundongos na ausência e presença do Sarcoma-180. No presente estudo foram obtidos teores próximos aos encontrados pelos referidos pesquisadores: 21,09 % proteínas, 2,58 % lipídios, 3,80 % fibras, 2,58 % cinzas e 63,24 % de carboidratos.

Silveira e Furlong (2007) também obtiveram, ao final de 72 horas de processo, aumento no teor proteico nos farelos desengordurados de arroz e trigo fermentados por *Rhizopus sp.*, 33,00 e 56,50% respectivamente, em relação ao farelo não fermentado. Os pesquisadores atribuíram tal diferença ao desenvolvimento do fungo no meio.

No presente estudo também foi realizada a determinação da atividade de água (A_w) nos grãos de trigos (*in natura* e fermentados), e os valores encontrados foram $0,593 \pm 0,01$ para o trigo *in natura*, e, $0,583 \pm 0,01$ para o trigo fermentado, sem diferença estatística ($p < 0,05$). De acordo com Pelizer et al. (2003) a A_w influencia o crescimento microbiano e processos biológicos e enzimáticos. Cada micro-organismo possui um limite mínimo de A_w para realizar suas atividades metabólicas. Notoriamente, valores de A_w menores que 0,60 asseguram a sanidade microbiológica do material.

4.2 OTIMIZAÇÃO DA BIOMASSA DE *A. brasiliensis* EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE MINERAIS

4.2.1 Determinação de biomassa e EPS de *Agaricus brasiliensis* dos cultivos submersos

Os níveis das concentrações dos minerais avaliados foram inseridos em um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), este tipo delineamento já foi utilizado anteriormente para experimentos fermentativos com micro-organismos do gênero *Agaricus* por Carneiro et al. (2011) e Liu e Wang (2007).

Os resultados da produção de biomassa e EPS do primeiro ensaio de cultivo submerso são apresentados na TABELA 8.

TABELA 8 - DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL PARA ESTUDO DA FORMAÇÃO DE BIOMASSA DE *Agaricus brasiliensis* OBTIDA POR CULTIVO SUBMERSO COM ADIÇÃO DE COM ZINCO E COBRE

Ensaio	Níveis codificados		Níveis decodificados		Biomassa (g.L ⁻¹)	EPS (g.L ⁻¹)
	Zn (mg.L ⁻¹)	Cu (mg.L ⁻¹)	Zn (mg.L ⁻¹)	Cu (mg.L ⁻¹)		
1	-1	-1	15,80	2,05	5,86±0,02c	0,40±0,01acd
2	1	-1	44,20	2,05	5,83±0,08c	0,35±0,01d
3	-1	1	15,80	8,65	5,82±0,05c	0,38±0,01bcd
4	1	1	44,20	8,65	6,27±0,02b	0,41±0,01ac
5	0	0	30,00	5,35	6,58±0,01a	0,40±0,02acd
6	0	0	30,00	5,35	6,54±0,03a	0,43±0,01a
7	0	0	30,00	5,35	6,60±0,01a	0,43±0,02ab
8	-1,41	0	10,00	5,35	6,36±0,05b	0,41±0,01ac
9	1,41	0	50,00	5,35	6,19±0,05b	0,39±0,01acd
10	0	-1,41	30,00	0,70	5,52±0,04d	0,37±0,01cd
11	0	1,41	30,00	10,00	5,82±0,04c	0,39±0,01d

NOTA: Os resultados obtidos estão apresentados na forma de média ± desvio padrão (n=3). Letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente (p<0,05). Faixa estudada: Zn: 10 a 50 mg.L⁻¹; Cu: 0,7 a 10,0 mg.L⁻¹. EPS – Exopolissacarídeo

A produção de biomassa de *A. brasiliensis* por meio da adição de zinco e cobre ao inóculo apresentou diferença estatística (IC = 95%), os resultados dos pontos centrais não diferiram entre si e ainda são os maiores valores observados para esse parâmetro. Para EPS observa-se que os ensaios 2, 3, 10 e 11 possuem

valores menores que os dos pontos centrais. Esses resultados apresentam uma tendência de maior crescimento de biomassa e produção de EPS nos pontos centrais, provavelmente devido aos níveis dos minerais utilizados. Alguns minerais em concentrações elevadas podem prejudicar o crescimento de plantas e organismos vivos, afetando seus órgãos, alterando processos bioquímicos, organelas e membranas celulares (ALEXANDRE et al., 2012). Todavia, mesmo em pequenas quantidades, alguns metais podem influenciar o desenvolvimento dos organismos, por formarem complexos estáveis com as biomoléculas (BISINOTI, YABE e GIMENEZ, 2004).

A Correlação de Pearson foi aplicada aos resultados obtidos, e verificou-se uma correlação de 0,80, ou seja, uma correlação positiva forte entre os valores de biomassa e EPS obtidos (TABELA 8). Foi considerada correlação positiva forte valores entre 0,70 a 1,00 moderada 0,30 a 0,70 e fraca 0 a 0,30, e correlação negativa forte valores entre - 0,70 a - 1,00 moderada - 0,30 a - 0,70 e fraca 0 a - 0,30 (BARBETTA, 2006).

Com base nos dados obtidos na Análise de Variância (ANOVA), obteve-se o modelo final (EQUAÇÃO 6) utilizando como resposta a produção de biomassa de *A. brasiliensis*, em função das concentrações de Zn e Cu no inóculo.

$$\text{Biomassa (Zn, Cu)} = 6,57 + 0,04\text{Zn} - 0,17\text{Zn}^2 + 0,10\text{Cu} - 0,45\text{Cu}^2 + 0,12\text{Zn} \cdot \text{Cu}$$

(EQUAÇÃO 6)

No Diagrama de Pareto, representado pela FIGURA 5, observa-se que os coeficientes lineares, quadráticos e os coeficientes da interação foram significativos, com exceção do coeficiente linear da concentração de Zn. O aumento das concentrações de Zn e Cu (coeficientes quadráticos) apresentou uma tendência de diminuição nos níveis de biomassa formada e o excesso de cobre (Q) tem efeito negativo sobre o aumento da biomassa, assim, isto indica que o aumento do cobre (L), dentro da faixa estudada, acarreta aumento no rendimento da biomassa. A interação entre os dois fatores apresenta um efeito sinérgico, ou seja, a interação entre o cobre e o zinco foi positiva para a formação de biomassa de *A. brasiliensis*.

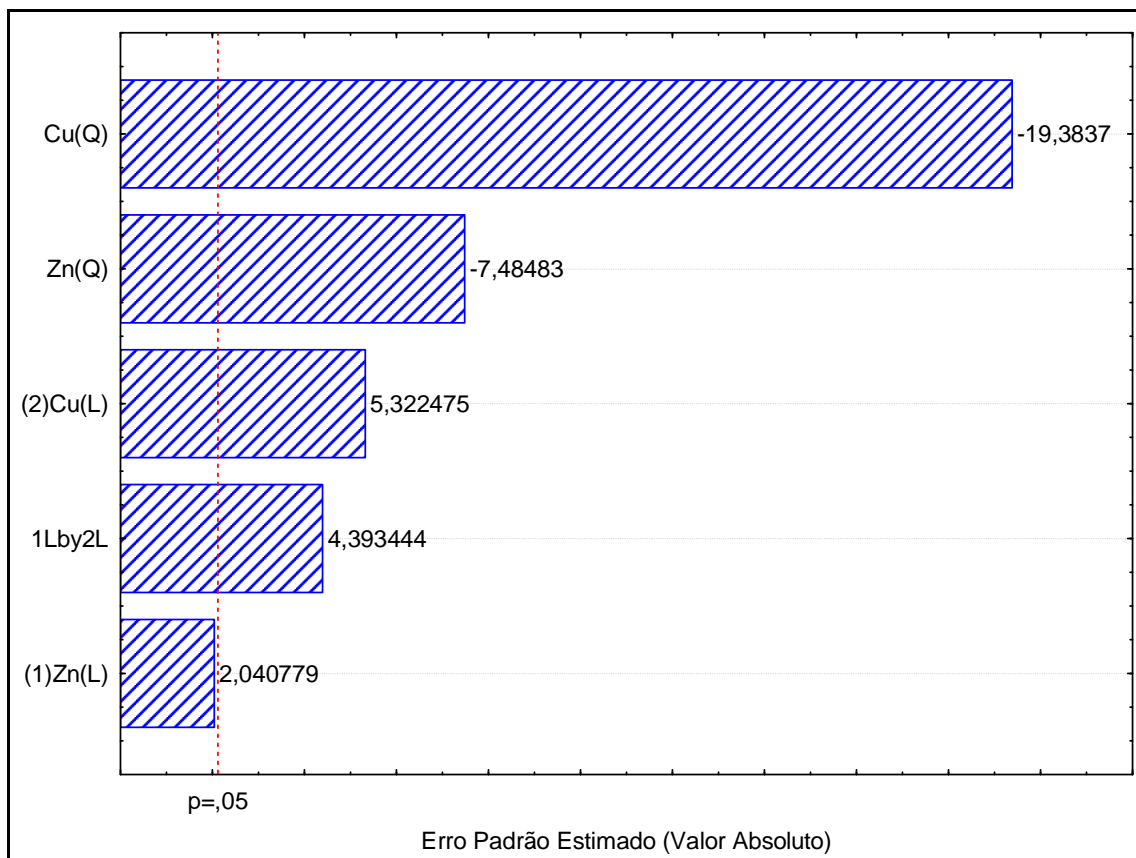


FIGURA 5 - DIAGRAMA DE PARETO DOS EFEITOS PADRÕES PARA PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE *Agaricus brasiliensis* EM CULTIVO SUBMERSO EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE ZINCO E COBRE

Os dados obtidos na Análise de Variância para a produção de biomassa de *A. brasiliensis* em função das concentrações de Zn e Cu adicionadas ao inóculo são apresentados na TABELA 9, e segundo estes dados, o modelo apresentou regressão significativa em nível de 95% de confiança ($F_{\text{calculado}} > F_{\text{tabelado}}$) com R^2 igual a 0,9633, assim o modelo explicou 96,33% da variação dos dados experimentais.

TABELA 9 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA BIOMASSA DO PRIMEIRO CULTIVO SUBMERSO COM *Agaricus brasiliensis* EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE ZINCO E COBRE

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrados médios	F calculado	F tabelado	R^2
Modelo	4	2,63	0,66	112,24	2,96	0,9633
Resíduo	17	0,10	5,88x10E-3	-	-	-
Total	21	2,73	-	-	-	-

Na FIGURA 6 observa-se a superfície de resposta quadrática da produção de biomassa (g.L^{-1}) de *A. brasiliensis* em cultivo submerso com zinco e cobre (apresentados na forma dos níveis do delineamento).

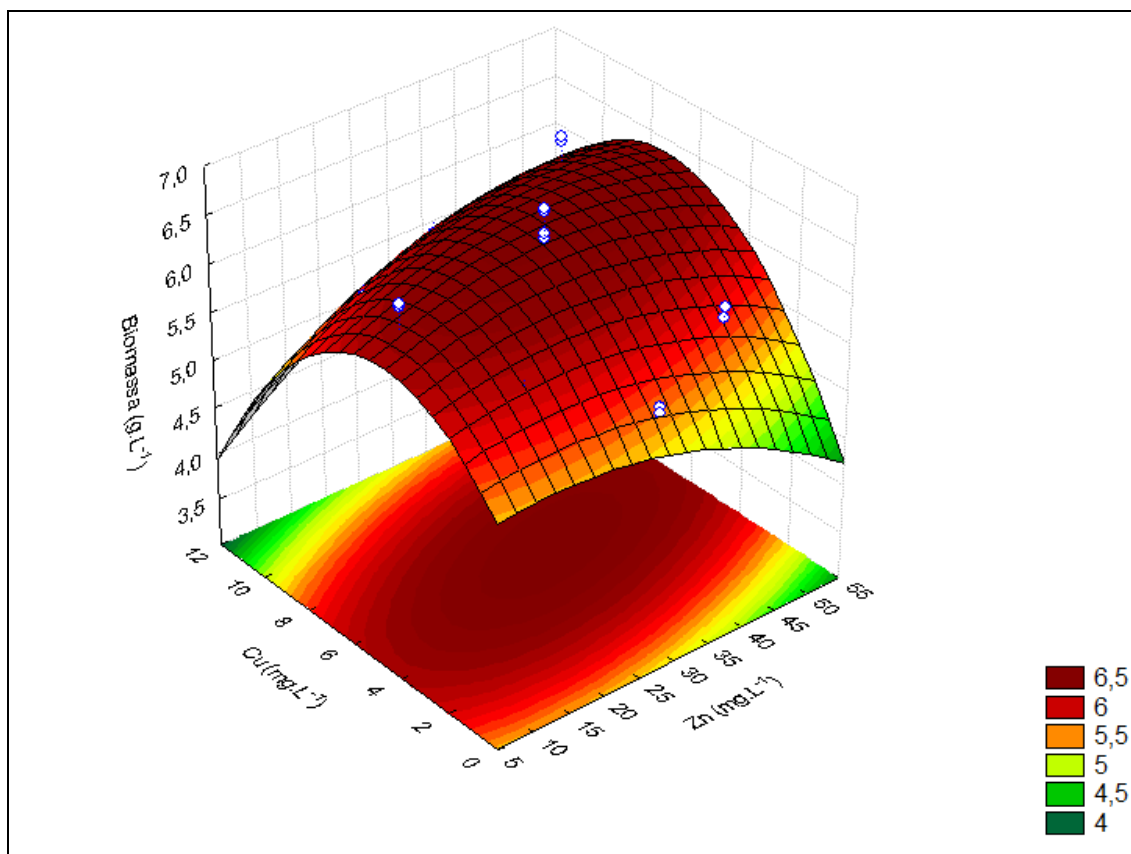


FIGURA 6 - SUPERFÍCIE DE RESPOSTA QUADRÁTICA DA PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE *Agaricus brasiliensis* EM CULTIVO SUBMERSO EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE ZINCO E COBRE

Produção de biomassa de *A. brasiliensis* enriquecida com zinco e cobre utilizando fermentação submersa é raro encontrar na literatura. Alguns pesquisadores relatam o incremento de zinco para produção de biomassa e acúmulo de zinco em outros micro-organismos, como Roepcke, Vandenberghe e Soccol (2011) otimizaram a produção de biomassa de *Pichia guilliermondii* com acúmulo de Zn por fermentação submersa, e obtiveram o máximo de produtividade de biomassa de 0,1511 g/L/h.

Rabinovich et al. (2007) investigaram o enriquecimento micelial de *A. blazei* Murril com cobre e zinco a fim de verificar bioacumulação e biodisponibilidade dos minerais. Eles reportaram que doses mais baixas de Cu tenderam a estimular a produção de

crescimento micelial, mostrando um incremento de 18% com 50 ppm de Cu (14 g.L^{-1} de micélio seco). A adição de 25 ppm de Zn para os meios de cultura significativamente estimulou o crescimento micelial, obtendo-se 44% de biomassa a mais que o controle.

Na FIGURA 7 são apresentadas as curvas de nível geradas através do modelo proposto pela EQUAÇÃO 6.

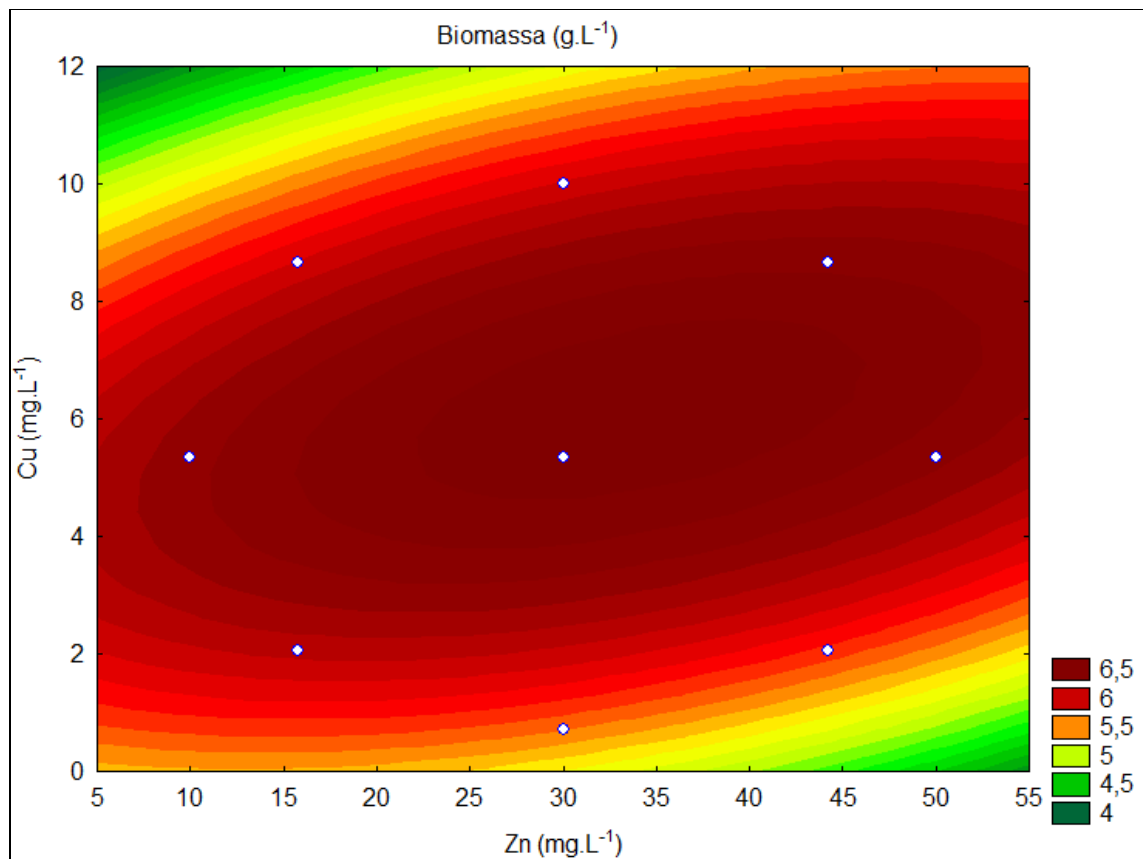


FIGURA 7 - CURVAS DE NÍVEL DA PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE *Agaricus brasiliensis* EM CULTIVO SUBMERSO EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE ZINCO E COBRE

A superfície de resposta quadrática e as curvas de nível (FIGURAS 6 e 7) confirmaram a análise de efeitos da variação da resposta para cada parâmetro estudado (concentrações de Zn e Cu). A região onde foram observados os maiores valores de biomassa corresponde às concentrações de ambos os minerais, Zn e Cu, no ponto central, que corresponderam a $30,00$ e $5,35 \text{ mg.L}^{-1}$, respectivamente.

O modelo final para a produção de EPS obtido por meio da adição de Zn e Cu, está descrito na EQUAÇÃO 7.

$$\text{EPS (Zn, Cu)} = 0,42 - 0,05 \text{ Zn} - 0,10 \text{ Zn}^2 + 0,008 \text{ Cu} - 0,22 \text{ Cu}^2 + 0,19 \text{ Zn} \cdot \text{Cu}$$

(EQUAÇÃO 7)

Na FIGURA 8 visualiza-se o Diagrama de Pareto que contém os coeficientes lineares, quadráticos e os coeficientes da interação Zn e Cu para a produção de EPS. Os coeficientes lineares não foram significativos ($p < 0,05$). O aumento de cobre (Q) e zinco (Q) tende a uma diminuição na produção de EPS, porém a interação entre esses dois minerais apresentou efeito sinérgico em relação ao aumento de EPS.

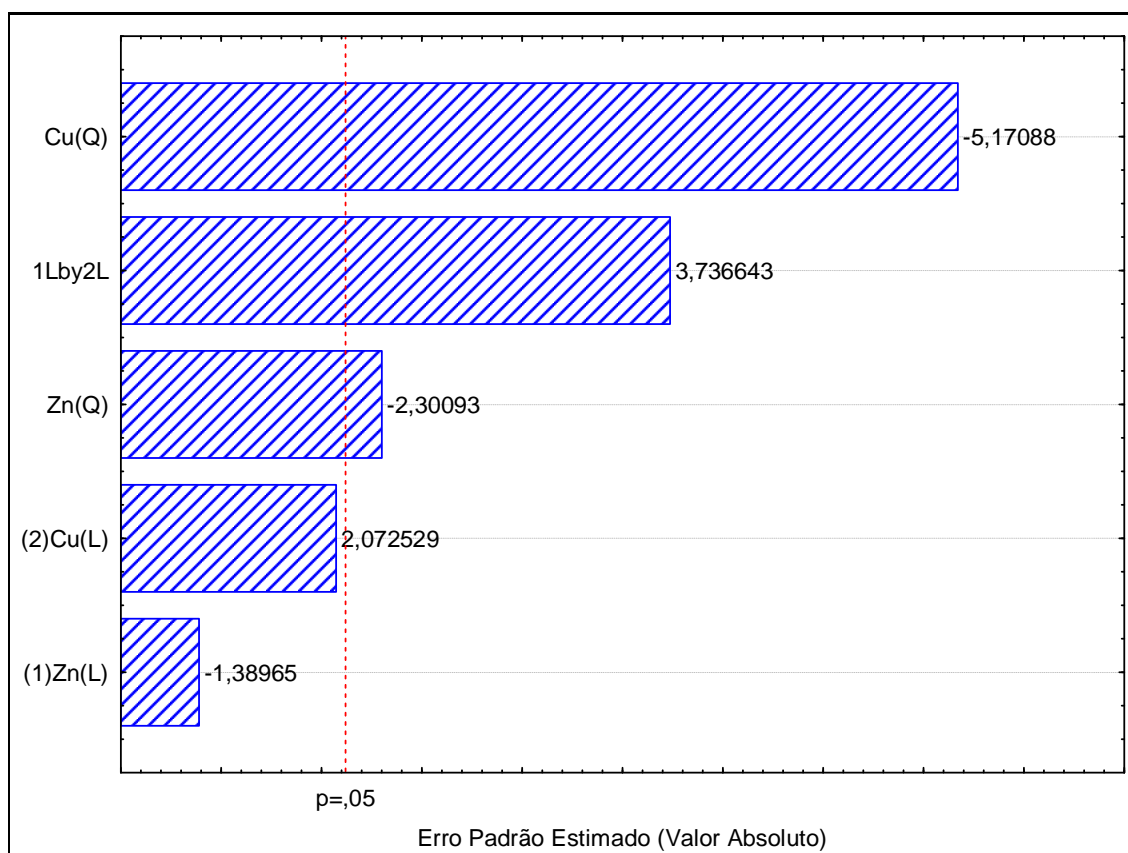


FIGURA 8 - DIAGRAMA DE PARETO DOS EFEITOS PADRÕES PARA PRODUÇÃO DE EPS DE *Agaricus brasiliensis* EM CULTIVO SUBMERSO EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE ZINCO E COBRE

Na TABELA 10 estão os dados obtidos na Análise de Variância para a produção de EPS de *A. brasiliensis* em função das concentrações de Zn e Cu adicionadas ao inóculo.

TABELA 10 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA PRODUÇÃO DE EPS DE *Agaricus brasiliensis* EM CULTIVO SUBMERSO EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE ZINCO E COBRE

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrados médios	F calculado	F tabelado	R ²
Modelo	3	0,010	3,41x10E-3	17,86	3,16	0,7793
Resíduo	18	0,003	1,91x10E-4	-	-	-
Total	21	0,013	-	-	-	-

Como base nos dados da TABELA 10 verifica-se que o ajuste do modelo também foi expresso pelo coeficiente de correlação R^2 que foi de 0,7793, indicando que aproximadamente 78% da variabilidade na resposta podem ser explicados pelo modelo matemático representado pela EQUAÇÃO 7.

Na FIGURA 9 pode ser observada a superfície de resposta quadrática e na FIGURA 10 as curvas de nível geradas através do modelo proposto para a produção de EPS com Zn e Cu.

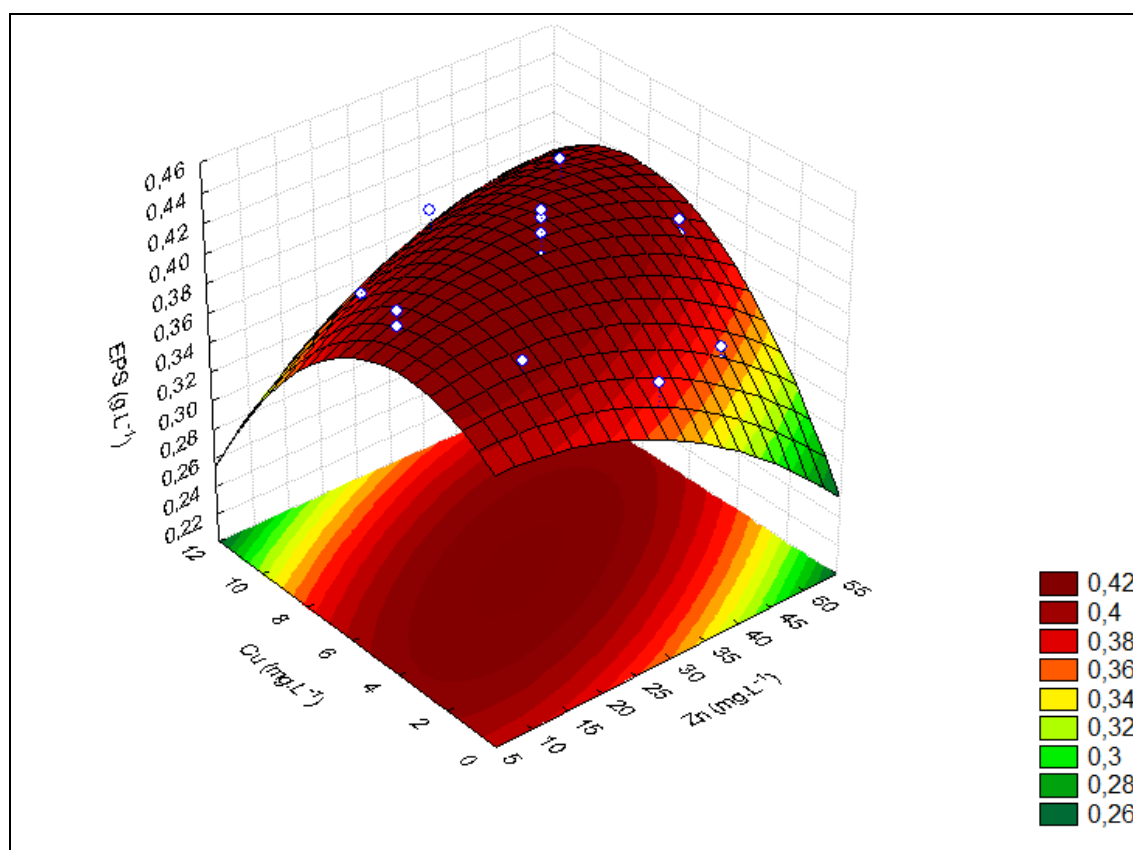


FIGURA 9 - SUPERFÍCIE DE RESPOSTA QUADRÁTICA DA PRODUÇÃO DE EPS DE *Agaricus brasiliensis* EM CULTIVO SUBMERSO EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE ZINCO E COBRE

Por meio de observação da superfície de resposta quadrática e das curvas de nível (FIGURAS 9 e 10) pode-se confirmar a análise de efeitos, essas figuras permitem visualizar a variação da resposta para cada parâmetro estudado (concentrações de Zn e Cu).

A região onde são observados os maiores valores de EPS correspondem às concentrações de ambos os minerais, Zn e Cu, no ponto central, analogamente à produção de biomassa. Desse modo, no estudo em questão, as melhores concentrações de Zn e Cu para produção de biomassa e EPS, as quais correspondem $30,00 \text{ mg.L}^{-1}$ e $5,35 \text{ mg.L}^{-1}$, respectivamente.

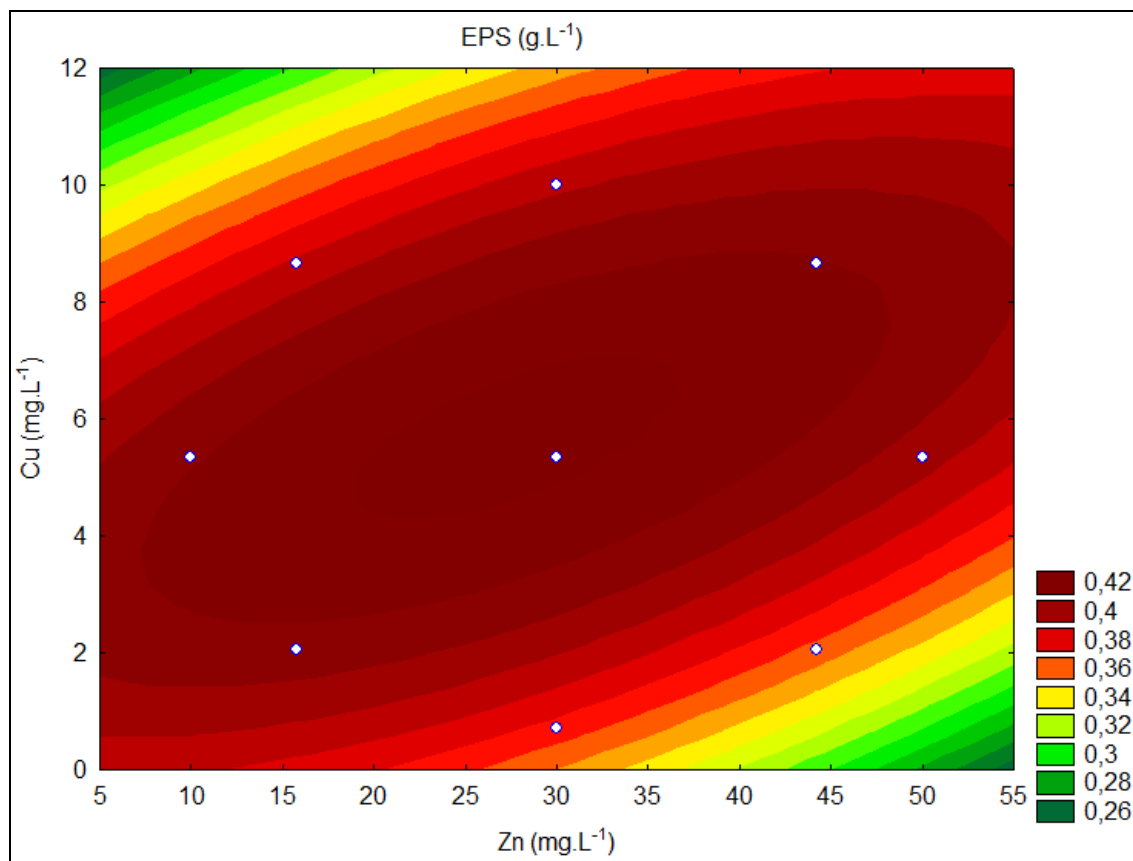


FIGURA 10 - CURVAS DE NÍVEL DA PRODUÇÃO DE EPS DE *Agaricus brasiliensis* EM CULTIVO SUBMERSO EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE ZINCO E COBRE

Na TABELA 11 estão os teores obtidos para biomassa e EPS na segunda fermentação submersa, onde o objetivo era verificar a influência dos minerais selênio (Se) e cálcio (Ca) na produção de biomassa e EPS.

TABELA 11 - DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL PARA ESTUDO DA FORMAÇÃO DE BIOMASSA DE *Agaricus brasiliensis* OBTIDA POR CULTIVO SUBMERSO COM ADIÇÃO DE SELÊNIO E CÁLCIO

Ensaio	Níveis codificados		Níveis decodificados		Biomassa (g.L ⁻¹)	EPS (g.L ⁻¹)
	Se (mg.L ⁻¹)	Ca (mg.L ⁻¹)	Se (mg.L ⁻¹)	Ca (mg.L ⁻¹)		
1	-1	-1	2,00	10,00	3,91±0,01c	0,36±0,01c
2	1	-1	10,00	10,00	4,08±0,03b	0,37±0,02bc
3	-1	1	2,00	50,00	3,90±0,02c	0,35±0,02c
4	1	1	10,00	50,00	3,92±0,03c	0,43±0,00ab
5	0	0	6,00	30,00	4,49±0,01a	0,42±0,00ab
6	0	0	6,00	30,00	4,55±0,02a	0,44±0,00a
7	0	0	6,00	30,00	4,59±0,01a	0,44±0,01a
8	-1,41	0	0,36	30,00	4,12±0,01b	0,40±0,02ac
9	1,41	0	11,60	30,00	4,12±0,03b	0,40±0,01ac
10	0	-1,41	6,00	1,80	4,14±0,03b	0,36±0,00c
11	0	1,41	6,00	58,20	4,14±0,03b	0,38±0,01bc

NOTA: Os resultados obtidos estão apresentados na forma de média ± desvio padrão (n=3). Letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente (p<0,05). Faixa estudada: Se: 0,36 a 11,60 mg.L⁻¹; Ca: 1,80 a 58,20 mg.L⁻¹. EPS – Exopolissacarídeo

A produção de biomassa de *A. brasiliensis* por meio da adição de selênio e cálcio ao inóculo (dados da TABELA 11) apresentou diferença estatística (IC = 95%), onde apenas os resultados dos pontos centrais não diferiram e ainda são os maiores valores observados para esse parâmetro. Para EPS observa-se que os ensaios 1, 2, 3, 10 e 11 possuem valores menores que os dos pontos centrais. Esses resultados apresentam uma tendência de maior crescimento de biomassa e produção de EPS nos pontos centrais, analogamente ao ocorrido com a adição de Zn e Cu.

A Correlação de Pearson foi aplicada aos resultados obtidos, e verificou-se uma correlação de 0,73, ou seja, uma correlação positiva forte entre os valores de biomassa e EPS obtidos formação de biomassa de *A. brasiliensis* adição de selênio e cálcio. Foi considerada correlação positiva forte valores entre 0,70 a 1,00 moderada 0,30 a 0,70 e fraca 0 a 0,30, e correlação negativa forte valores entre - 0,70 a - 1,00 moderada - 0,30 a - 0,70 e fraca 0 a - 0,30 (BARBETTA, 2006).

Em relação às concentrações de Se e Ca, o modelo final obtido pela regressão utilizando como resposta a produção de biomassa está descrito na EQUAÇÃO 8.

$$\text{Biomassa (Se, Ca)} = 4,54 + 0,02 \text{ Se} - 0,25 \text{ Se}^2 - 0,21\text{Ca} - 0,24 \text{ Ca}^2 - 0,38\text{Se}*\text{Ca}$$

(EQUAÇÃO 8)

O Diagrama de Pareto com os coeficientes lineares, quadráticos e os coeficientes da interação Se e Ca está ilustrado na FIGURA 11. Apenas os coeficientes quadráticos foram significativos, onde o aumento da concentração de ambos os minerais (Se e Ca) acarreta em diminuição da biomassa.

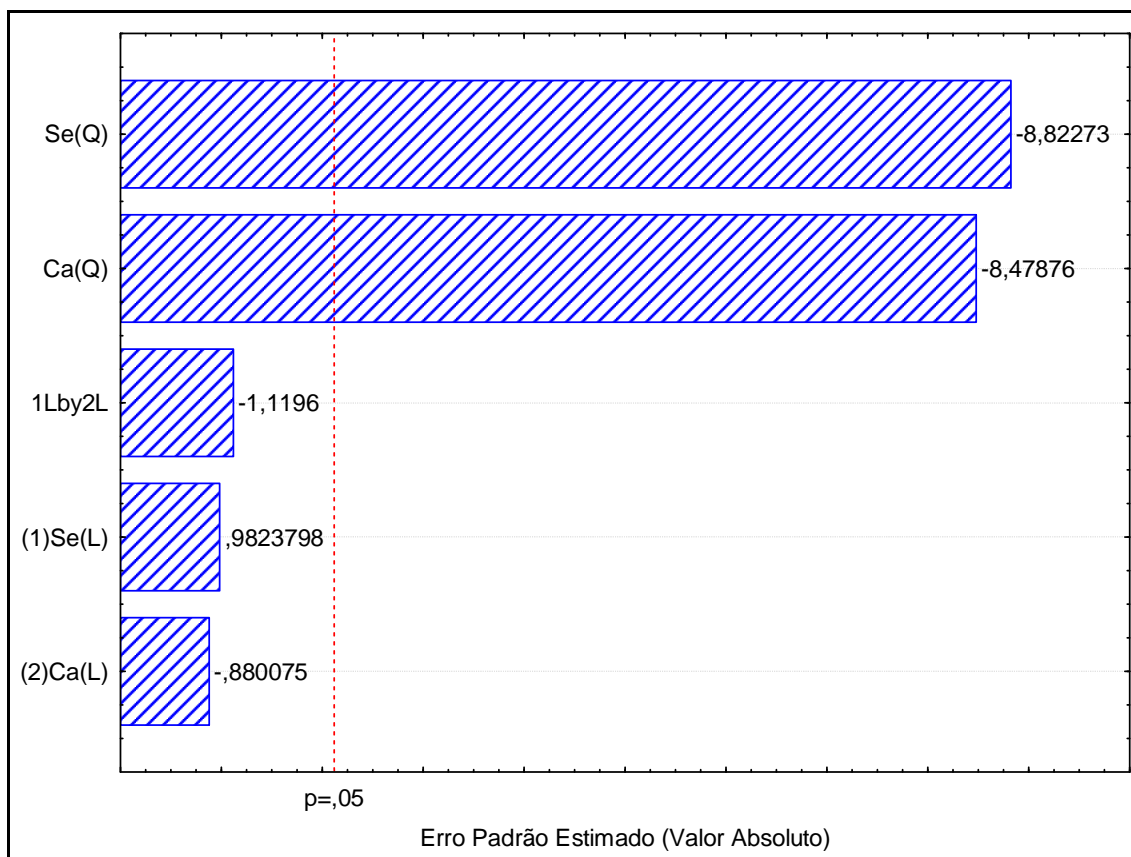


FIGURA 11 - DIAGRAMA DE PARETO DOS EFEITOS PADRÕES PARA PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE *Agaricus brasiliensis* EM CULTIVO SUBMERSO EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE SELÊNIO E CÁLCIO

Na TABELA 12 estão os dados obtidos na Análise de Variância para a produção de biomassa de *A. brasiliensis* em função das concentrações de Se e Ca adicionadas ao inóculo.

TABELA 12 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE *Agaricus brasiliensis* EM CULTIVO SUBMERSO EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE SELÊNIO E CÁLCIO

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrados médios	F calculado	F tabelado	R ²
Modelo	2	1,14	0,57	72,20	3,52	0,8837
Resíduo	19	0,15	7,89x10E-3	-	-	-
Total	21	1,29	-	-	-	-

O modelo apresentou regressão significativa em nível de 95% de confiança ($F_{\text{calculado}}$ superior ao F_{tabelado}) com R^2 igual a 0,8837, evidenciando que o modelo explicou 88,37% da variação dos dados experimentais (TABELA 12).

Na FIGURA 12 é ilustrada a superfície de resposta quadrática e na FIGURA 13 as curvas de nível geradas através do modelo proposto para a produção de biomassa de *A. brasiliensis* em fermentação submerso com adição de Se e Ca.

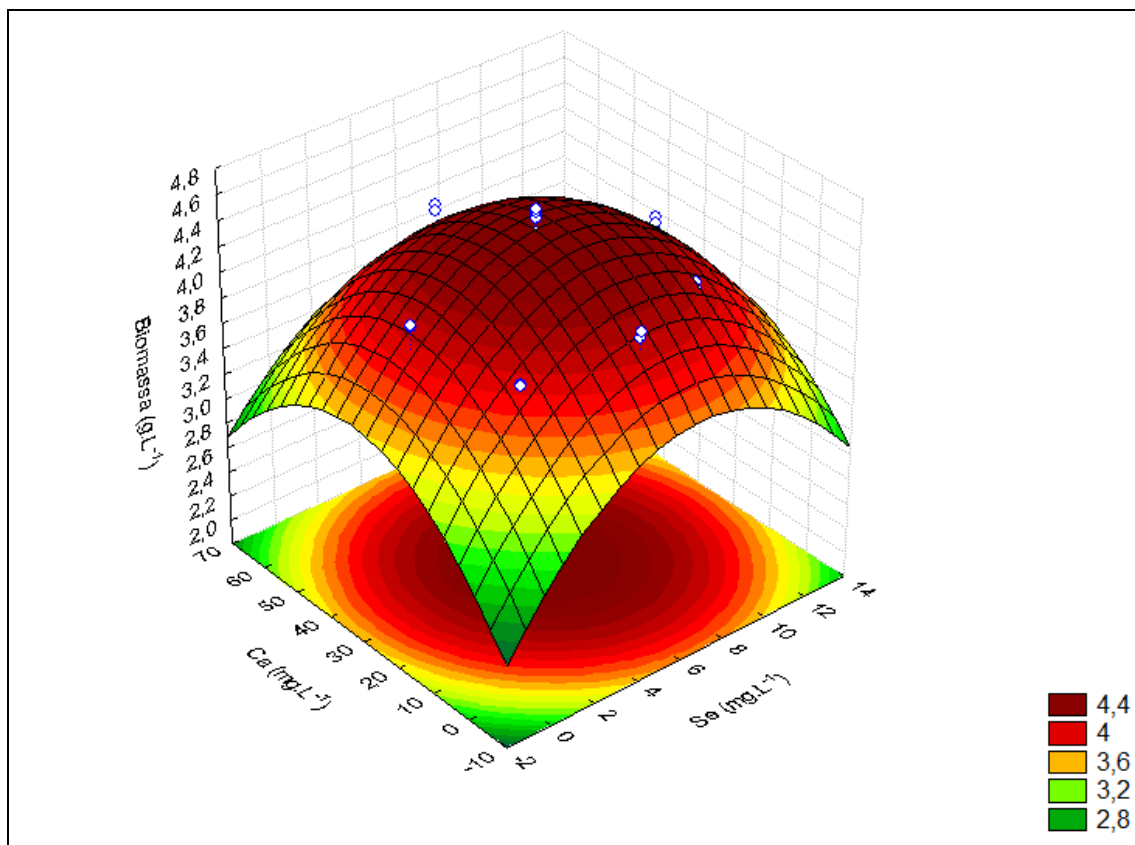


FIGURA 12 - SUPERFÍCIE DE RESPOSTA QUADRÁTICA DA PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE *Agaricus brasiliensis* EM CULTIVO SUBMERSO EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE SELÊNIO E CÁLCIO

Por meio de observação da superfície de resposta quadrática e das curvas de nível (FIGURAS 12 e 13), pode-se confirmar a análise de efeitos. Essas figuras permitem visualizar a variação da resposta para cada parâmetro estudado (concentrações de Se e Ca). A região onde são observados os maiores valores de biomassa corresponde às concentrações de ambos os minerais, Se e Ca, no ponto central.

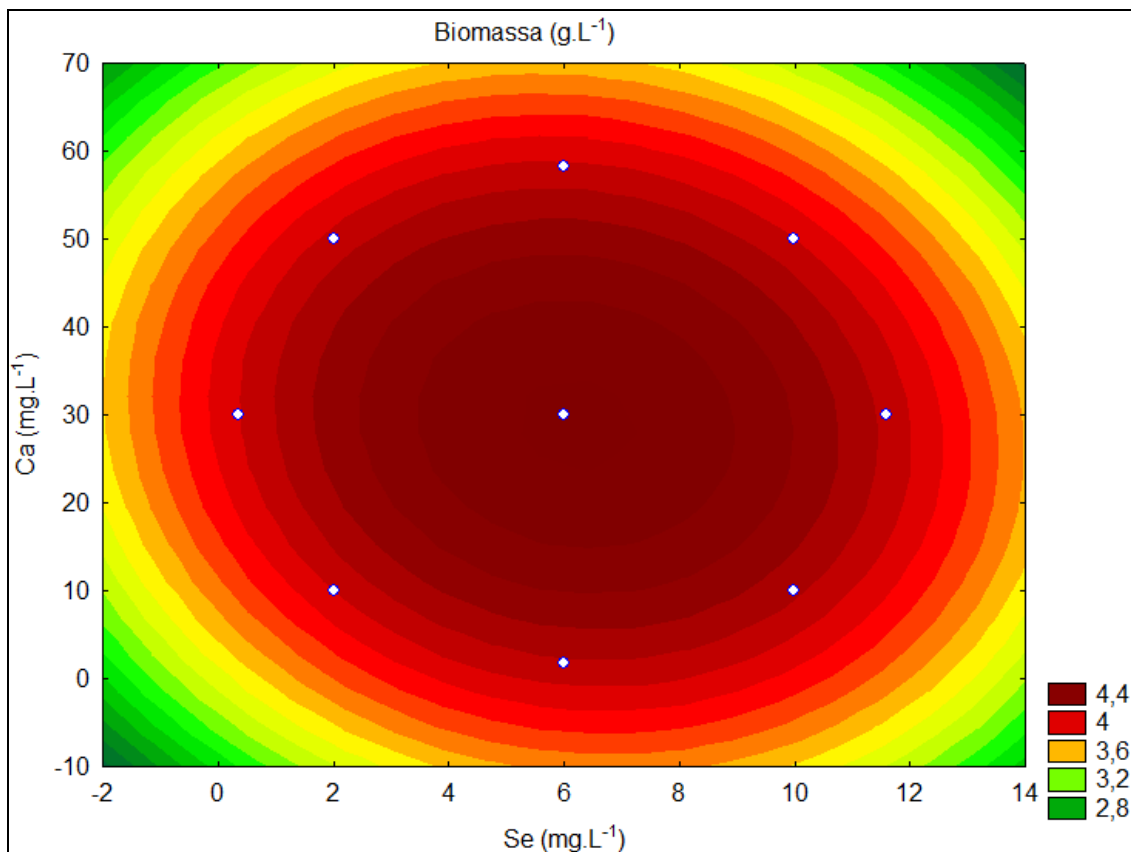


FIGURA 13 - CURVAS DE NÍVEL DA PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE *Agaricus brasiliensis* EM CULTIVO SUBMERSO EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE SELÊNIO E CÁLCIO

Shong et al. (2009) avaliaram a produção de biomassa do cogumelo *Stropharia rugosoannulata* com o enriquecimento da fermentação submersa com selênio. Os pesquisadores utilizaram uma concentração de $150 \mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$ e obtiveram uma biomassa de $8,11 \pm 0,25 \text{ g}.\text{L}^{-1}$.

Em relação às concentrações de Se e Ca, o modelo final obtido pela regressão utilizando como resposta a produção de EPS está descrito na EQUAÇÃO 9.

$$\text{EPS (Se, Ca)} = 0,43 + 0,01 \text{ Se} - 0,18 \text{ Se}^2 + 0,10 \text{ Ca} - 0,33 \text{ Ca}^2 + 0,14 \text{ Se} \cdot \text{Ca}$$

(EQUAÇÃO 9)

Na FIGURA 14 é ilustrado o Diagrama de Pareto com os coeficientes lineares, quadráticos e os coeficientes da interação Se e Ca para produção de EPS de *A. brasiliensis*. Todos os coeficientes (quadráticos, lineares e interação) foram

significativos, embora pela observação no diagrama tem-se que o aumento das concentrações de Se e Ca quadráticos tende a diminuir o teor de EPS formado.

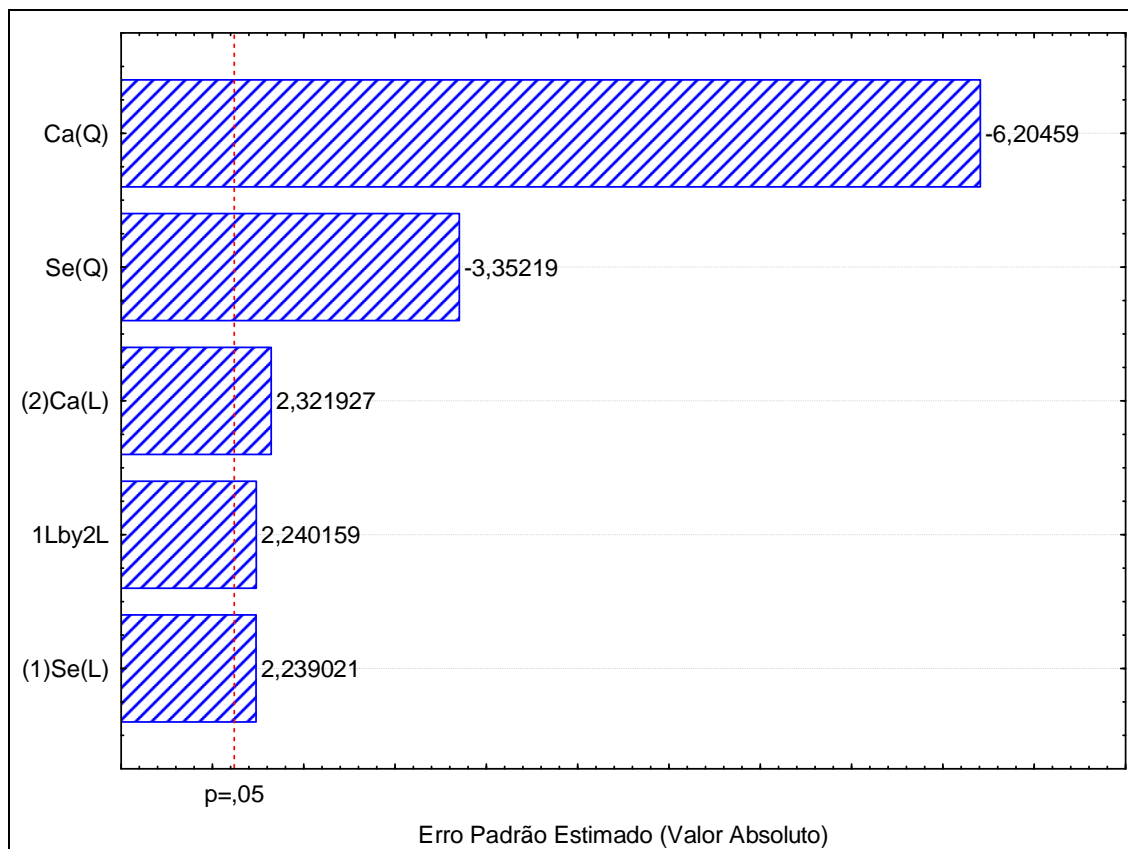


FIGURA 14 - DIAGRAMA DE PARETO DOS EFEITOS PADRÕES PARA PRODUÇÃO DE EPS DE *Agaricus brasiliensis* EM CULTIVO SUBMERSO EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE SELÊNIO E CÁLCIO

Na TABELA 13 estão os dados obtidos na Análise de Variância para a produção de EPS de *A. brasiliensis* em função das concentrações de Se e Ca adicionadas ao inóculo.

TABELA 13 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO EPS DE *Agaricus brasiliensis* EM CULTIVO SUBMERSO EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE SELÊNIO E CÁLCIO

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrados médios	F calculado	F tabelado	R ²
Modelo	5	0,018	3,60x10E-3	11,53	2,85	0,7826
Resíduo	16	0,005	3,12x10E-4	-	-	-
Total	21	0,023	-	-	-	-

Na FIGURA 15 é ilustrada a superfície de resposta quadrática e na FIGURA 16 as curvas de nível geradas por meio do modelo proposto para a produção de EPS de *A. brasiliensis* em fermentação submersa com Se e Ca.

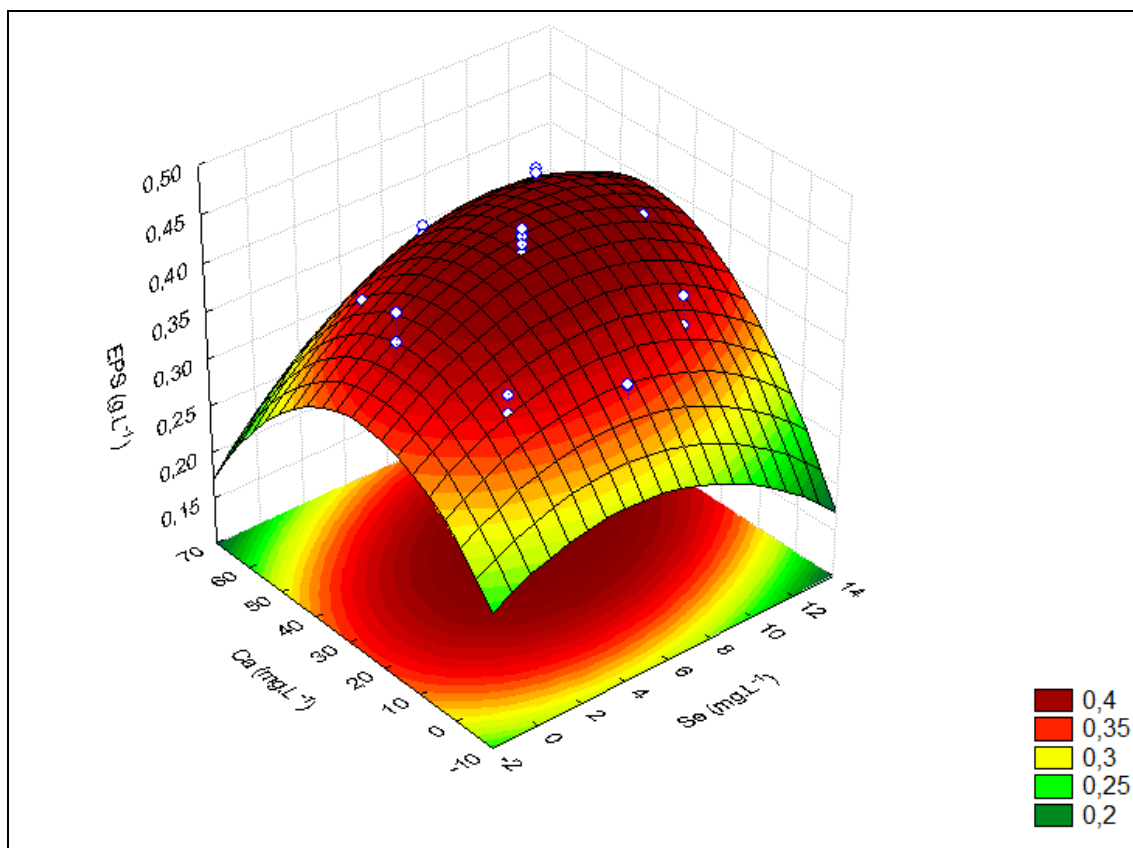


FIGURA 15 - SUPERFÍCIE DE RESPOSTA QUADRÁTICA DA PRODUÇÃO DE EPS DE *Agaricus brasiliensis* EM CULTIVO SUBMERSO EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE SELÊNIO E CÁLCIO

Pela observação da superfície de resposta quadrática e das curvas de nível para a produção de biomassa (FIGURAS 12 e 13) e de EPS (FIGURAS 15 e 16) confirma-se a análise de efeitos e pode-se visualizar a variação da resposta para cada parâmetro estudado (concentrações de Se e Ca). A região onde são observados os maiores valores de biomassa e EPS corresponde às concentrações de ambos os minerais, Se e Ca, no ponto central. Logo, no estudo em questão, as melhores concentrações de Se e Ca foram 6,00 e 30,00 mg.L⁻¹, respectivamente.

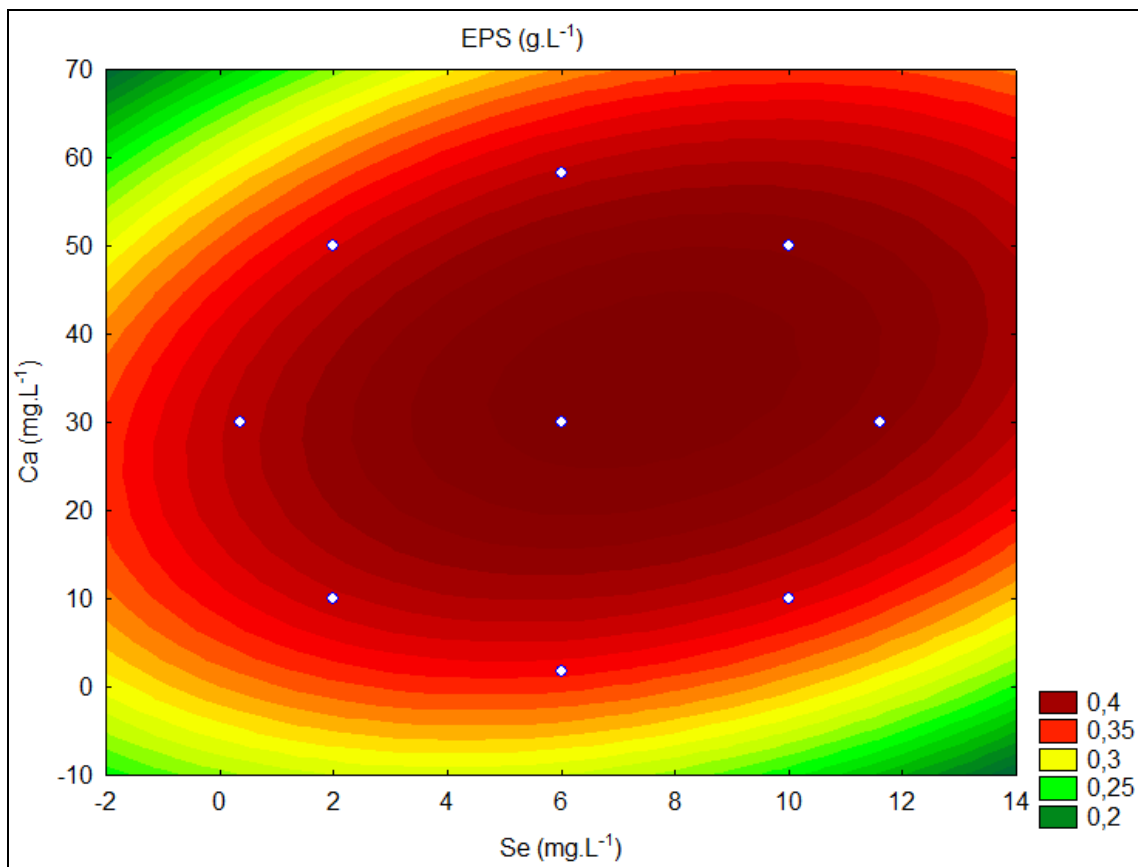


FIGURA 16 - CURVAS DE NÍVEL DA PRODUÇÃO DE EPS DE *Agaricus brasiliensis* EM CULTIVO SUBMERSO EM FUNÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE SELÊNIO E CÁLCIO

Com base nos estudos realizados, foram escolhidos para a 3ª fermentação os níveis de minerais dos pontos centrais da primeira fermentação (adição de Zn e Cu) e da segunda fermentação (adição de Se e Ca), cujos valores foram de Zn (0 e 30 mg.L⁻¹), Cu (0 e 5,35 mg.L⁻¹), Se (0 e 6 mg.L⁻¹), Ca (0 e 30 mg.L⁻¹) (valores sem diferença estatística $p < 0,05$). Esses valores propiciaram condições favoráveis às maiores quantidades produzidas de biomassa e EPS de *A. brasiliensis* por fermentação submersa.

Os resultados para biomassa e EPS de *Agaricus brasiliensis* resultantes da 3ª fermentação estão apresentados na TABELA 14.

O maior teor de biomassa foi obtido pela combinação dos quatro minerais nas concentrações dos pontos centrais (delineamentos anteriores), o valor médio verificado foi de $5,82 \pm 0,03$. Para os valores de EPS, os ensaios 3 e 4 não apresentaram diferenças estatísticas ($p < 0,05$). Desse modo o ensaio 4 foi escolhido para a fermentação sólida subsequente.

TABELA 14 – BIOMASSA E EPS OBTIDOS EM CULTIVO SUBMERSO DE *Agaricus brasiliensis* COM ADIÇÃO DE SELÊNIO, CÁLCIO, ZINCO E COBRE

Ensaio	Níveis originais dos minerais				Biomassa (g.L ⁻¹)	EPS (g.L ⁻¹)
	Se (mg.L ⁻¹)	Ca (mg.L ⁻¹)	Zn (mg.L ⁻¹)	Cu (mg.L ⁻¹)		
1	0	0	0	0	2,40±0,09d	0,41±0,01a
2	0	0	30,00	5,35	5,45±0,06b	0,35±0,01c
3	6,00	30,00	0	0	4,15±0,04c	0,39±0,03ab
4	6,00	30,00	5,35	5,35	5,82±0,03a	0,38±0,01b

NOTA: Os resultados obtidos estão apresentados na forma de média ± desvio padrão (n=3). Letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente (p<0,05). Faixa estudada: Zn (0 e 30 mg.L⁻¹); Cu (0 e 5,35 mg.L⁻¹); Se (0 e 6 mg.L⁻¹); Ca (0 e 30 mg.L⁻¹)

Em um processo fermentativo ocorre a produção de biomassa e de EPS, porém essas quantidades não são necessariamente proporcionais, pois são dependentes dos diferentes fatores utilizados no cultivo, tais como fontes de carbono e de nitrogênio, pH, temperatura, agitação, grau de aeração, entre outros. Além de interferir na produção da biomassa e EPS, esses parâmetros podem interferir em outros componentes isolados do substrato (SELBMANN, CROGNALE e PETRUCCIOLI, 2002).

Lin e Yang (2006) otimizaram condições e meios de cultivo em fermentação submersa de *A. blazei* Murril com uso de biorreator, obtiveram em média 10,83 g.L⁻¹ de biomassa (peso seco) e 0,25 g.L⁻¹ de polissacarídeo. A maior quantidade de biomassa produzida foi resultante da fermentação submersa em biorreator, com ajuste de pH e aeração durante todo o período de cultivo, o que favorece o desenvolvimento do micélio; diferente do presente estudo, onde as fermentações foram realizadas em frascos Erlenmeyers. Por outro lado, os resultados de produção de EPS foram superiores (em média de 0,38 g.L⁻¹) aos obtidos por Lin e Yang (2006) e próximos aos de Lima (2009), que obteve em média 0,43 g.L⁻¹ de EPS em cultivo submerso de *Agaricus silvaticus*.

4.2.2 Determinação da biomassa de *Agaricus brasiliensis* no cultivo sólido por dosagem de ergosterol

Para determinar a biomassa produzida no cultivo no estado sólido, foi utilizada a quantificação de ergosterol. Seitz et al. (1977) sugerem a análise de

ergosterol como uma medida mais apropriada de invasão fúngica de grãos. Ruzicka et al. (2000) afirmaram que a medida da concentração do ergosterol em substratos naturais é, sem dúvida, o mais eficiente método para estimar a biomassa fúngica.

A metodologia utilizada para dosar ergosterol no presente estudo foi adaptada de Hong e Wen-Ying (2007), os quais compararam os resultados obtidos em HLPC e em espectrofotômetro UV, e no estudo realizado concluíram que o método espectrofotométrico é mais fácil e mais barato do que o método HPLC, apresentando resultados próximos para o teor de ergosterol em biomassa de *A. brasiliensis*.

Logo, é possível estabelecer uma correlação entre a produção de biomassa e de ergosterol. Essa correlação foi estimada por Dalla Santa et al. (2012), onde com base em dados sobre o conteúdo de ergosterol da biomassa oriunda da cultivo submerso correlacionaram a biomassa produzida no cultivo sólido por meio do conteúdo de ergosterol. Desse modo, 1 g de biomassa seca possui 6,71 mg ergosterol e 1 g de grãos de trigo fermentados com *A. brasiliensis* contém 1,95 mg de ergosterol. Os pesquisadores mencionados obtiveram um valor máximo de 0,29 g de biomassa.g⁻¹ trigo fermentado no 14º dia de processo.

Montgomery et al. (2000) já haviam estabelecido uma correlação entre biomassa de fungos existentes em determinados solos e teores de ergosterol, cujo fator de conversão foi de 250 µg de biomassa para 1 µg de ergosterol. Esse fator foi estabelecido para os fungos *Alternaria alternata*, *Chaetomium globosum*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium chrysogenum*, *Rhizopus stolonifer* e *Trichoderma harzianum*.

Na TABELA 15 estão os resultados obtidos do ergosterol no trigo *in natura* e nos trigos fermentados com *A. brasiliensis* com e sem adição de minerais e da biomassa estimada para os processos fermentativos em estado sólido.

Pelos resultados da TABELA 15, percebe-se que a adição de minerais aos inóculos do cultivo sólido proporcionou um aumento na produção de ergosterol e biomassa fúngica. Em relação ao trigo fermentado sem minerais, houve um aumento da ordem de 2,25 vezes de ergosterol produzido quando foram utilizados os minerais Zn, Cu, Se e Ca em conjunto, desse modo há claramente uma influência dos minerais no desenvolvimento micelial. E em relação ao trigo *in natura*, o *A. brasiliensis* propiciou um acréscimo de 5,27 vezes de ergosterol na presença dos quatro minerais citados anteriormente. A biomassa produzida em meio da adição dos quatro minerais também apresentou uma considerável relação de crescimento

micelial quando comparada ao trigo fermentado com *A. brasiliensis*, porém sem adição de minerais, essa relação foi de 2,25:1,00.

TABELA 15 – QUANTIFICAÇÃO DE ERGOSTEROL EM TRIGO *IN NATURA* E EM TRIGO FERMENTADO COM *Agaricus brasiliensis* E ADIÇÃO DE MINERAIS NO INÓCULO E BIOMASSA ESTIMADA

Descrição Fermentação Sólida	Ergosterol (mg.g ⁻¹ MS)*	Biomassa estimada** (g.g ⁻¹ trigo fermentado)
Trigo puro (<i>in natura</i>) sem fermentação – trigo controle	0,2693±0,0358 d	-
Trigo fermentado com <i>A. brasiliensis</i> sem adição de minerais	0,6301±0,0467 c	0,0943±0,0069 c
Trigo fermentado com <i>A. brasiliensis</i> e enriquecido com Zn e Cu	1,2351±0,0246 b	0,1840±0,0037 b
Trigo fermentado com <i>A. brasiliensis</i> e enriquecido com Se e Ca	1,2484±0,0313 b	0,1860±0,0047 b
Trigo fermentado com <i>A. brasiliensis</i> e enriquecido com Zn, Cu, Se e Ca	1,4208±0,0310 a	0,2117±0,0046 a

NOTA: *MS: massa seca. Os resultados obtidos estão apresentados na forma de média ± desvio padrão (n=3). Letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente (p<0,05). ** Biomassa estimada em massa seca

Os teores de ergosterol obtidos foram inferiores aos encontrados por Dalla Santa et al. (2012), porém superiores aos resultados de Rubel et al. (2011), que estimaram a biomassa *Ganoderma lucidum* em fermentação sólida de grãos de trigo por meio da concentração de ergosterol, eles obtiveram uma estimativa de 0,628 mg de biomassa para cada grama de trigo fermentado.

Zou (2006) obteve em média 1,82 mg.g⁻¹ (base seca) de ergosterol de *A. brasiliensis* no 8º dia de fermentação submersa. O pesquisador estudou diferentes fontes de carbono no meio, conseguindo a relação em ordem crescente para glicose > frutose > maltose > sacarose, em relação ao teor de ergosterol. Assim o meio contendo glicose apresentou biomassa com maior teor de ergosterol que os demais. Shu e Lin (2011) realizaram cultivo submerso de *A. blazei* e verificaram no 15º dia de fermentação uma produção aproximada de 7 g.L⁻¹ de biomassa e 25 mg.L⁻¹ de ergosterol. Gao e Gu (2007) verificaram índices de 10,990 g.L⁻¹ de biomassa, 0,072 g.L⁻¹ de ergosterol e 0,467 g.L⁻¹ de polissacarídeos, em cultivo submerso à temperatura de 20 °C por 60 horas.

Jasinghe, Perera e Sablani (2007), avaliaram o conteúdo de ergosterol em cogumelos frescos, obtiveram um teor médio de 44,80 µg.g⁻¹ de ergosterol em cogumelos Shiitake frescos.

4.3 DETERMINAÇÃO DE BETA-GLUCANAS

Smiderle et al. (2011) relataram que o conteúdo de polissacarídeos varia de micro-organismo para micro-organismo. Assim, o *A. bisporus* apresenta maior teor de manogalactanas (56%) que β -glucanas (24%), enquanto o *A. brasiliensis* possui mais β -glucanas (49%) que α -glucanas (25%) e manogalactanas (25%).

Na FIGURA 17 estão ilustrados os resultados obtidos para a determinação de β -glucanas do trigo *in natura*, do trigo fermentado com Zn, Cu, Se e Ca, e das barras de cereais com trigo fermentado com *A. brasiliensis* adicionado de minerais durante o cultivo sólido.

Os teores de β -glucanas nas amostras de barras de cereais com *A. brasiliensis* variaram de 1,30 a 3,82 g.100 g⁻¹. A amostra 1 (20% de aveia) diferiu significativamente das amostras 2 e 3, tendo a amostra 3 (20% trigo fermentado com *A. brasiliensis*) evidenciado aumento significativo em relação à amostra 2 (20% gergelim branco). Destaca-se tal amostra como alternativa interessante quando comparada a outros ingredientes habitualmente incorporados em barras de cereais, uma vez que os agáricos apresentam reconhecidas características nutricionais e medicinais (LOPES, SABAINI e GOMES-DA-COSTA, 2009).

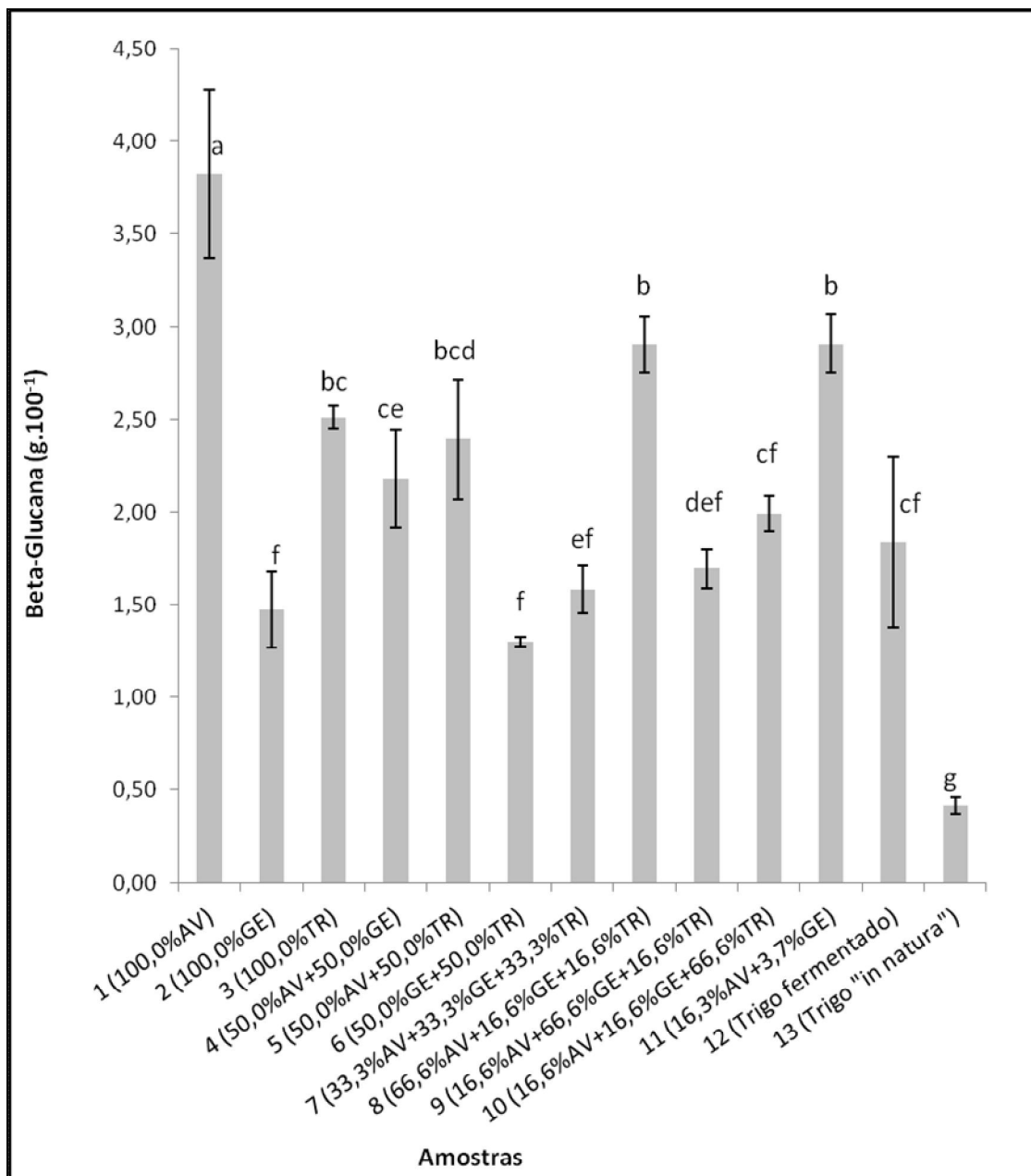


FIGURA 17 - TEOR DE BETA-GLUCANAS DE TRIGO *IN NATURA*, TRIGO FERMENTADO COM *Agaricus brasiliensis* E DAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS

NOTA: Amostras de 1 a 11 = Barras de cereais; Amostra 11 = Amostra controle; Amostra 12 = trigo fermentado com *A. brasiliensis* com Zn, Cu, Se e Ca; Amostra 13 = trigo *in natura*. Os resultados obtidos estão apresentados na forma de média \pm desvio padrão ($n = 3$). Letras iguais nas barras não diferem significativamente ($p < 0,05$).

A amostra 13 (trigo *in natura*) apresentou teor médio de $0,42 \text{ g.100 g}^{-1}$ de beta-glucanas e a amostra 12 (trigo fermentado com *A. brasiliensis*) $1,84 \text{ g.100 g}^{-1}$. O valor médio de β -glucanas obtido para o trigo fermentado com *A. brasiliensis* foi 4,38 vezes superior ao resultado observado para o trigo *in natura*. O teor de β -glucanas verificado para o trigo *in natura* mostrou-se próximo ao obtido por Fujita e

Figuerola (2003), que relataram valores entre 0,47 a 0,72% em grãos de trigo. Não foram encontrados dados na literatura sobre beta-glucanas em trigo fermentado com fungos.

Gutkoski et al. (2007) determinaram β -glucanas em barras de cereais com aveia e observaram que as formulações contendo maiores teores de fibra alimentar também apresentaram os maiores teores de β -glucanas. De acordo com a legislação brasileira vigente, os produtos com o mínimo de 3 g de fibras ou de β -glucanas por 100 g podem ser considerados alimentos de “alto teor” de fibras e “fonte” de fibras, respectivamente. No presente estudo, apenas a amostra 1 (com 20% de aveia) apresentou teor acima de $3 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ de β -glucanas, podendo ser considerada alimento funcional. A aveia tornou-se conhecida por sua alta concentração de beta-glucanas (BRASIL, 2002).

As diferenças no teor de β -glucanas das barras de cereais podem ser explicadas pela variação dos níveis de aveia e trigo fermentado utilizado. Justifica-se o alto teor de β -glucanas (FIGURA 17) da amostra 1 pelo índice de aveia em flocos contido nessa formulação, considerando que o teor de β -glucanas nesse cereal varia de 4,50 a 6,50% (FUJITA e FIGUEROA, 2003; GUTKOSKI e TROMBETTA, 1999). Saastamoinen, Plaami e Kumpulainen (1992) encontraram teores médios de 1,90% a 5,10% de β -glucanas em aveia. Enquanto Cho e White (1993) relataram que o conteúdo de β -glucanas em grãos de 243 amostras de aveia mostrou uma distribuição normal com a maioria das amostras em torno de 4,50% a 5,50% de β -glucanas por 100 g de aveia seca.

Shu, Lin e Wen (2007) encontraram um valor máximo de $188 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ β -glucanas por biomassa de *Agaricus blazei*.

Manzi e Pizzoferrato (2000) verificaram β -glucanas em *Pleurotus ostreatus*, *P. pulmonarius*, *P. eryngii* e *Lentinula edodes*, e encontraram valores na faixa de 0,21 a $0,53 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ para cogumelo seco. Sandula et al. (1999) detectaram a presença de β -glucanas nas paredes celulares *Saccharomyces cerevisiae* e de *Aspergillus niger*. Rosli e Aishah (2012) obtiveram em média $3,57 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ de β -glucanas em *Pleurotus sajor-caju* (PSC).

O consumo regular de β -glucanas está relacionado à atenuação da resposta glicêmica e insulínica pós-prandial. A β -glucana tem efeito sobre a degradação do amido e sobre o carboidrato disponível e consequentemente sobre o índice glicêmico dos alimentos ingeridos. Recomenda-se sua ingestão com o objetivo de

modular a glicemia e a necessidade de insulina no tratamento da obesidade, doenças cardiovasculares e do diabetes (MIRA, GRAF e CÂNDIDO, 2009).

Camelini et al. (2005 b), assim como Ohno et al. (2001) e Itoh et al. (1994), afirmaram que as β -glucanas dispõem de elevada atividade antitumoral, e por isso podem contribuir de forma importante na elaboração de produtos nutracêuticos. Dessa forma, o consumo de barras de cereais contendo *A. brasiliensis* poderia influenciar de forma benéfica a saúde do consumidor desse produto, uma vez que a presença de β -glucanas estimula a atividade antitumoral.

4.6 AVALIAÇÃO ANTIOXIDANTE

O valor médio do resíduo seco dos extratos de trigo *in natura* foi de $0,048 \pm 0,005 \text{ mg.mL}^{-1}$, para o trigo fermentado com *A. brasiliensis* e minerais foi de $0,049 \pm 0,006 \text{ mg.mL}^{-1}$, e para as barras de cereais de $0,047 \pm 0,005 \text{ mg.mL}^{-1}$.

Os resultados da avaliação da capacidade antioxidante total dos grãos de trigo, do trigo fermentado e das barras de cereais elaboradas estão ilustrados na FIGURA 18.

A capacidade antioxidante das amostras de barras de cereais com *A. brasiliensis* (amostras 1 a 11) variaram de 29,47 a 40,17 mg CAET.100 g⁻¹, com diferença estatística ($p < 0,05$) entre si. As amostras de trigo fermentado (amostra 12) e trigo *in natura* (amostra 13) também diferiram significativamente, com aumento de aproximadamente 2,20 vezes nos teores de capacidade antioxidante do trigo fermentado com *A. brasiliensis* (39,33 mg CAET.100 g⁻¹) em relação ao trigo *in natura* (85,65 mg CAET.100 g⁻¹).

A amostra 3 (TABELA 5) da barra de cereais com adição de 20% de trigo fermentado com *A. brasiliensis* diferiu estatisticamente das amostras com 20% de aveia (1) e 20% de gergelim (2), mas não da amostra 13 com trigo *in natura*, embora com acréscimo de 2,13% na capacidade antioxidante. A amostra de trigo fermentado com *A. brasiliensis* (12) evidenciou aumento próximo de 119% na capacidade antioxidante em relação à amostra 13 (trigo *in natura*). As amostras de 4 a 11, compostas por misturas das variáveis, não diferiram estatisticamente entre si.

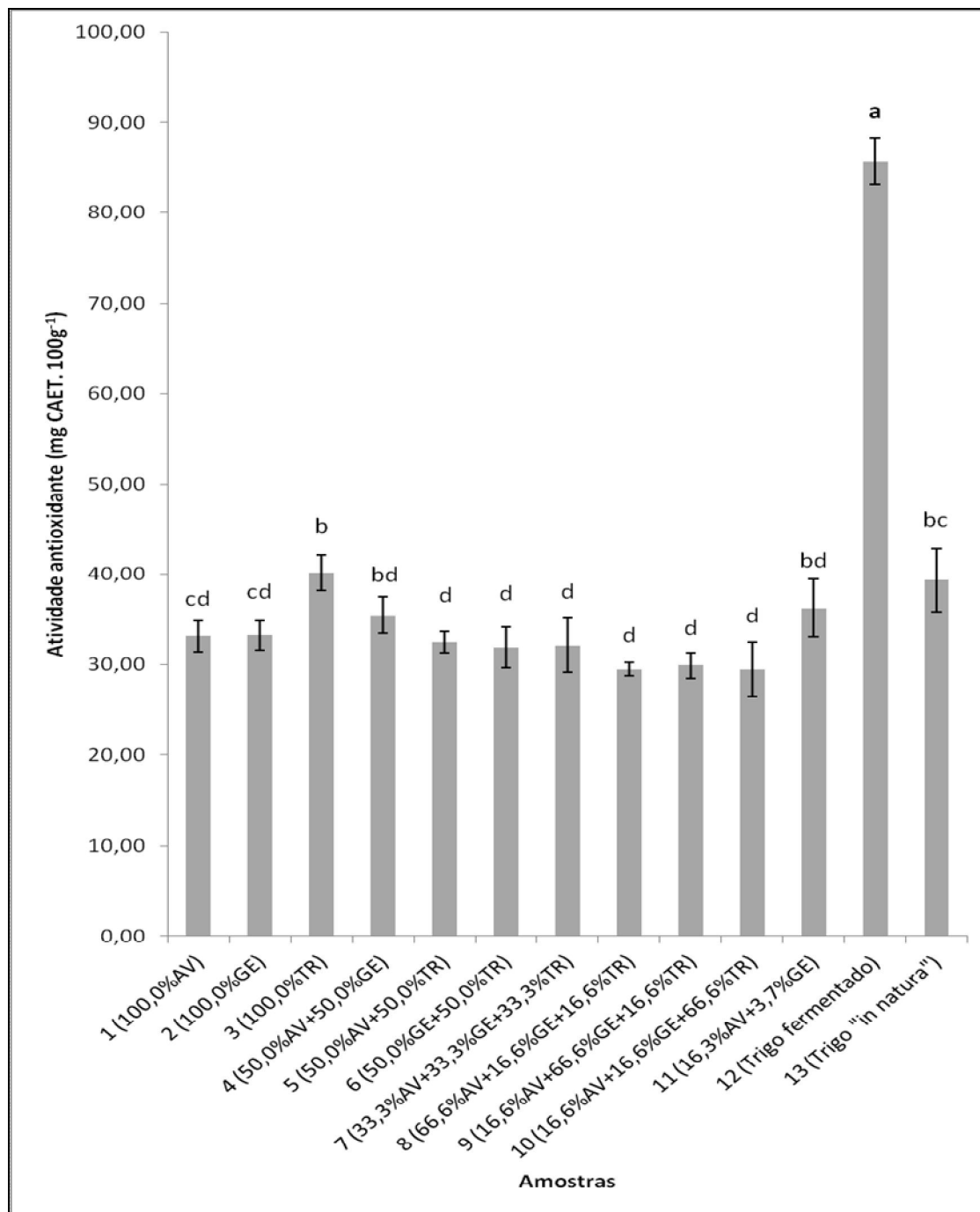


FIGURA 18 - RESULTADOS DA AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL DE TRIGO IN NATURA, TRIGO FERMENTADO COM *Agaricus brasiliensis* E DAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS

NOTA: Resultados expressos em mg equivalentes de trolox (CAET) e mg por 100 g de resíduo seco. Amostras de 1 a 11 = Barras de cereais; Amostra 11 = Amostra controle; Amostra 12 = trigo fermentado com *A. brasiliensis* com Zn, Cu, Se e Ca; Amostra 13 = trigo *in natura*. Os resultados obtidos estão apresentados na forma de média \pm desvio padrão ($n = 3$). Letras iguais nas barras não diferem significativamente ($p < 0,05$).

Liyana-Pathirana e Shahidi (2007) avaliaram a capacidade antioxidante total de grãos de trigo inteiros e derivados, obtendo teor médio de $4,99 \pm 0,06 \mu\text{mol}$ de

trolox.g⁻¹ de trigo. Alvarez-Jubete et al. (2010) analisaram os antioxidantes de grãos de trigo e constataram teor médio de 44,1±0,4 mg trolox.100 g⁻¹ de trigo, valor próximo ao verificado no presente estudo (39,33 mg CAET.100 g⁻¹).

Zhang et al. (2012) avaliaram a atividade antioxidante de trigo (*Triticum aestivum* Linn) e trigo fermentado em estado sólido com *Cordyceps militaris*. Obtiveram 64,52% de atividade antioxidante para o trigo sem o processo fermentativo e 71,21% para o trigo fermentado com concentração de 0,1 mg.mL⁻¹ de amostra, ou seja, aumento de aproximadamente 6,70% na atividade antioxidante após a fermentação. No presente estudo verificou-se aumento de 119% na capacidade antioxidante do trigo fermentado com *A. brasiliensis* em relação aos grãos de trigo in natura, o que evidencia o alto poder antioxidante desse cogumelo. Silva et al. (2009 b) também comprovaram a elevada capacidade antioxidante desse cogumelo (28,90%), indicando que os agáriscos constituem promissores agentes antioxidantes naturais.

Alezandro et al. (2011) avaliaram a atividade antioxidante de barras de cereais de soja com mel e obtiveram 20 mg CAET. 100 g⁻¹, valores inferiores aos constatados no presente trabalho (teor médio de 33,06±3,24).

A quantidade de antioxidantes de cada planta depende de diferentes fatores, incluindo as propriedades coloidais dos substratos, as condições e etapas de oxidação, a formação e a estabilidade dos radicais, assim como a provável localização dos antioxidantes e estabilidade em distintas fases do processamento dos alimentos (ROCKENBACH et al. 2007). As diferenças observadas na atividade antioxidante podem ser ainda maiores quando se analisa o alimento (matriz complexa), cujos componentes podem estabelecer inúmeras e diferentes interações entre si e com os solventes (ROCKENBACH et al., 2008).

Para a determinação dos compostos fenólicos utilizou-se ácido gálico como padrão para a curva analítica (n = 5; 0 – 200 mg.L⁻¹; y = 0,0025454 + 0,00069727 x e R²=0,993).

Os resultados da determinação de compostos fenólicos totais dos grãos de trigo, de trigo fermentado e das barras de cereais elaboradas são apresentados na FIGURA 19.

Os resultados dos teores de compostos fenólicos nas amostras de barras de cereais com *A. brasiliensis* variaram de 67,45 a 81,96 mg EAG.100 g⁻¹, não foi

constatada diferença estatística ($p < 0,05$) entre as amostras 1 a 4, assim como entre as amostras 5 a 11, porém esses dois grupos diferiram entre si e diferiram também das amostras 12 e 13.

Moraes et al. (2007) elaboraram barras de cereais adicionadas de passas de mirtilo e verificaram teor médio de compostos fenólicos de $23,70 \pm 4,70$ mg de quercetina.g⁻¹ de produto final. Sun-Waterhouse et al. (2010) desenvolveram barra de cereais funcional com adição de extrato de maçã, rico em polifenóis, obtendo teor médio de 2,87 mg CTE.g⁻¹ de barra de cereais (CTE = equivalente catequina).

As amostras de trigo fermentado (12) e de trigo *in natura* (13) diferiram entre si e das demais quanto aos teores de fenólicos totais ($98,03$ mg EAG.100 g⁻¹ e $47,03$ mg EAG.100 g⁻¹, respectivamente). A amostra 12 (trigo fermentado com *A. brasiliensis*) mostrou aumento próximo a 108% no teor de compostos fenólicos em relação à amostra 13 (trigo *in natura*), evidenciando a capacidade desse cogumelo em produzir moléculas bioativas. Silva e Jorge (2011), avaliando compostos fenólicos em corpos de frutificação de *A. blazei*, encontraram resultados na faixa de 26,67 a 28,89 mg.g⁻¹ de fenólicos totais, enquanto Soares et al. (2009) obtiveram de 28,82 a 29,64 mg.g⁻¹ de fenólicos totais para *A. blazei* em dois estádios de maturação do corpo de frutificação.

um teor de 290 µg de fenóis totais por grama de trigo. Liyana-Pathirana e Shahidi (2007) avaliaram o teor de compostos fenólicos de grãos de trigo inteiros e derivados, e obtiveram valor médio de 1291 ± 31 µg de FAE (equivalente ácido ferúlico) por grama de trigo. Alvarez-Jubete et al. (2010), analisando antioxidantes em grão de trigo, encontraram teor médio de fenólicos totais de $53,1 \pm 2,8$ mg EAG.100 g⁻¹ de trigo. Os valores de fenólicos relatados por tais pesquisadores foram superiores aos verificados neste estudo, devendo-se considerar a variação de espécie, estresse ambiental a que a planta foi submetida, estágios de crescimento e maturação, além da metodologia analítica empregada para sua determinação (CRUZ et al., 2011).

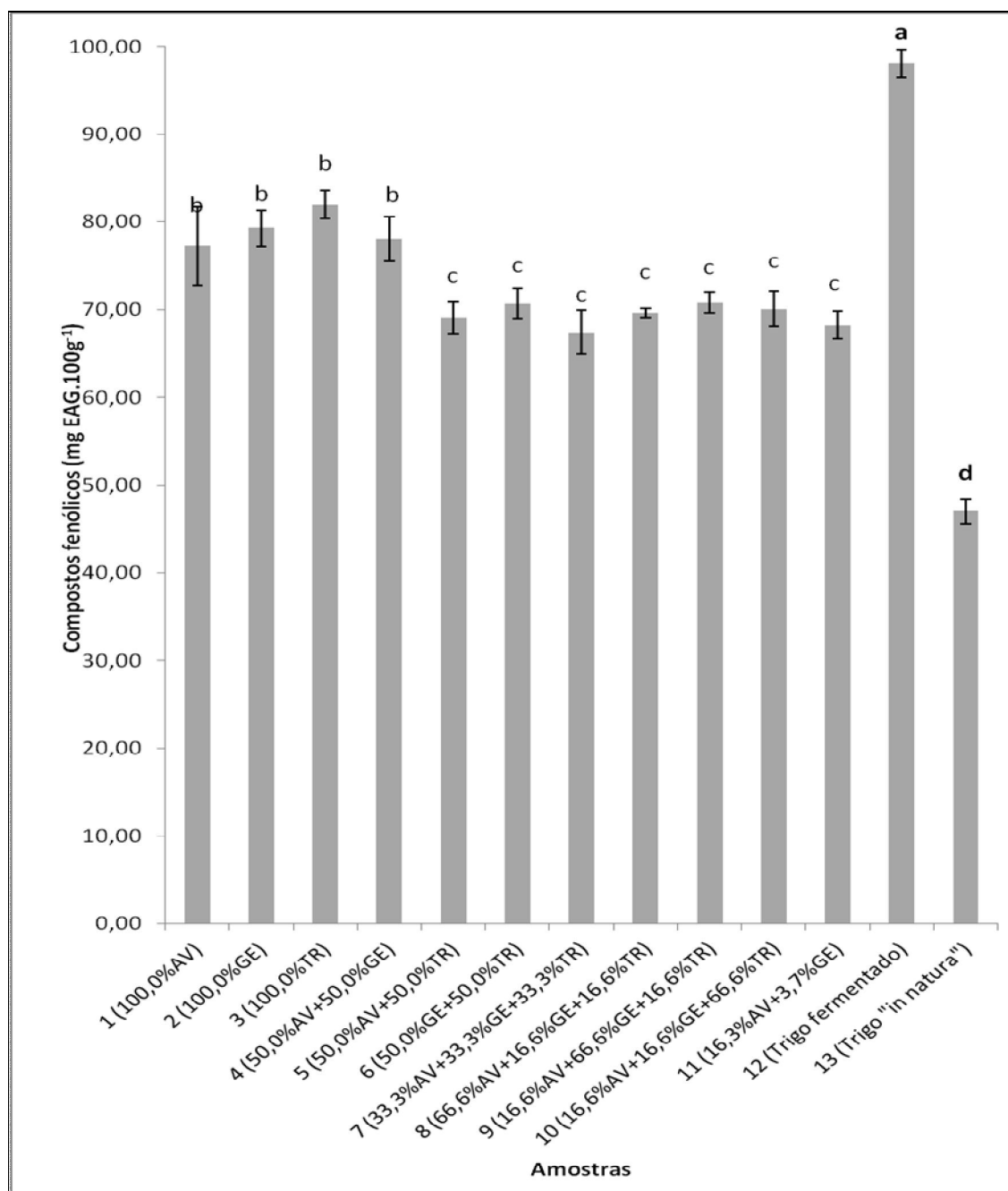


FIGURA 19 - RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS DE TRIGO IN NATURA, TRIGO FERMENTADO COM *Agaricus brasiliensis* E DAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS

NOTA: Resultados expressos em mg equivalentes de ácido gálico (EAG) por 100 g de resíduo seco. Amostras de 1 a 11 = Barras de cereais; Amostra 11 = Amostra controle; Amostra 12 = trigo fermentado com *A. brasiliensis* com Zn, Cu, Se e Ca; Amostra 13 = trigo *in natura*. Os resultados obtidos estão apresentados na forma de média \pm desvio padrão ($n = 3$). Letras iguais nas barras não diferem significativamente ($p < 0,05$).

Oliveira et al. (2007) avaliaram compostos fenólicos em grãos de trigo e obtiveram O enriquecimento de alimentos com compostos fenólicos por meio de

fermentação em estado sólido foi relatado para o feijão preto (LEE, HUNG e CHOU, 2008), a soja (LIN, WEI e CHOU, 2006) e o arroz (BHANJA et al., 2008). Liang, Syu e Mau (2009) utilizaram *Phellinus linteus* para fermentação em estado sólido de arroz e obtiveram valor médio de $4,38 \pm 0,03 \text{ mg.g}^{-1}$ fenois totais (expressos em equivalente em ácido cafeico) para o extrato aquoso e de $4,54 \pm 0,02 \text{ mg.g}^{-1}$ fenois totais para o extrato etanólico.

A presença de antioxidantes nas barras de cereais, em qualquer quantidade, representa diferencial sob o ponto de vista nutricional, uma vez que a legislação brasileira (BRASIL, 2003 a) não exige teor mínimo de antioxidantes no produto. Em vista disso, pode-se dizer que os das barras de cereais formuladas nesse estudo podem gerar benefícios ao consumidor, pois possibilitam o enriquecimento de sua dieta com antioxidantes para combater o efeito oxidativo e deletério dos radicais livres.

4.7 ANÁLISE DE MINERAIS

Na TABELA 16 estão os dados de bioacúmulo de minerais nas fermentações sólidas com *A. brasiliensis*. Estes resultados estão expressos em porcentagem de bioacúmulo do mineral, ou seja, o quanto foi incorporado na fermentação em questão em relação à fermentação controle (sem adição de minerais).

Os resultados médios dos minerais na fermentação controle foram: 0,024 mg de Zn, 0,005 mg de Cu, 0,001 mg de Se e 0,257 mg de Ca (valores em mg.g^{-1} de grãos de trigo fermentado com *A. brasiliensis*).

Todos os ensaios apresentaram porcentagens de bioacúmulo que diferiram estatisticamente ($p < 0,05$) para os minerais Zn, Se e Ca. Para o bioacúmulo de Cu, a fermentação sólida com adição somente de Se e Ca não apresentou diferença significativa da fermentação sólida com adição dos quatro minerais, isso evidencia que a adição de Cu com apenas outro mineral na fermentação sólida propiciou um maior bioacúmulo que nas demais. Semelhante ao cobre, o cálcio apresentou o mesmo comportamento, ou seja, o maior bioacúmulo para este mineral foi na fermentação na qual foi adicionado em presença apenas de selênio. O zinco e o

selênio não apresentaram o mesmo padrão de bioacúmulo que o cobre e o cálcio, uma vez que as maiores porcentagens de bioacúmulo são as da fermentação sólida com adição dos quatro minerais.

TABELA 16 – BIOACÚMULO DE MINERAIS NOS CULTIVOS SÓLIDOS COM *Agaricus brasiliensis*

Ensaio	Bioacúmulo de minerais (%)			
	Zn	Cu	Se	Ca
Fermentação sólida com Zn e Cu	16,22±0,74	50,00±5,75	5,18±2,22	37,25±0,09
	c	a	c	c
Fermentação sólida com Se e Ca	34,30±0,61	28,98±4,52	10,50±2,18	59,96±0,70
	b	b	b	a
Fermentação sólida com Zn, Cu, Se e Ca	37,51±0,97	35,52±5,37	20,05±1,67	38,61±0,41
	a	b	a	b

NOTA: Os resultados obtidos estão apresentados em porcentagens na forma de média ± desvio padrão (n = 3). Letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente (p<0,05). Zn = zinco; Cu = cobre; Se = selênio; Ca = cálcio.

Rabinovich et al. (2007) avaliaram o bioacúmulo de Zn e Cu em micélio de *Agaricus blazei* Murril e observaram que na presença de 25 ppm e 400 ppm de Zn, o micélio acumulou 1,18 e 14,37 ppm, respectivamente, ou seja, 13 e 163 vezes o conteúdo do micélio controle (88 ppm). E quanto ao acúmulo de Cu, na presença de 25 ppm e 400 ppm de Cu, o micélio acumulou 770 e 11,13 ppm, respectivamente, ou seja, um aumento de 449 e 31 vezes o conteúdo do micélio controle (24,80 ppm).

Shong et al. (2009), visando o aumento da produção de biomassa do cogumelo *Stropharia rugosoannulata* pelo enriquecimento do meio com selênio, observaram um bioacúmulo de aproximadamente 25% em relação ao micélio controle que possuía 4,73 µmg.g⁻¹ de Se. Os pesquisadores relatam que o micélio enriquecido com Se representa uma nova fonte de suplemento dietético de Se biodisponível.

Em outros experimentos com cogumelo Champignon, quando o selênio foi adicionado em 10 µg.g⁻¹ de composto, os cogumelos acumularam 110 µg de Se.g⁻¹ de corpo frutífero (DERNOVICS, STEFANKA e FODOR, 2002). O *Ganoderma lucidum* cultivado num substrato fortificado com 100 a 250 µg.g⁻¹ de Se (adicionado como selenito de sódio) acumulou aproximadamente 20% a 30% deste mineral nos corpos de frutificação (ZHAO et al., 2004).

Lee et al. (2009) avaliaram o bioacúmulo de minerais em cogumelos e verificaram um bioacúmulo de Ca de 0,1% para corpos de frutificação de *Pleurotus eryngii*, 0,4% para *Flammulina velutipes* e 0,4% para *Hypsizygus marmoreus*. Os pesquisadores relatam ainda que o bioacúmulo de cada mineral aparentemente depende da espécie específica do micro-organismo, pois existe seletividade do micro-organismo pelo determinado mineral.

Os minerais zinco, cobre, selênio e cálcio são considerados minerais funcionais por promover o bem-estar e beneficiar a saúde humana (PIMENTEL, FRANCKI e GOLLUCKE, 2005). Desse modo, com a finalidade de enriquecer com minerais as barras de cereais formuladas, por meio da veiculação desses minerais no trigo fermentado com *A. brasiliensis*, foi necessária a mensuração nos produtos elaborados. Assim, na TABELA 17 estão apresentados os resultados obtidos para a determinação de minerais do trigo *in natura*, do trigo fermentado com Zn, Cu, Se e Ca, e das barras de cereais com trigo fermentado com *A. brasiliensis* adicionado de minerais.

TABELA 17 – TEOR DE MINERAIS DO TRIGO *IN NATURA*, TRIGO FERMENTADO COM *Agaricus brasiliensis* E DAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS

Amostra	Teor de minerais (mg.100 g ⁻¹)			
	Zn	Cu	Se	Ca
1	2,19±0,05 cd	0,66±0,02 a	0,15±0,05 ab	18,67±1,53 bcd
2	1,07±0,02 g	0,61±0,03 a	0,13±0,02 ac	14,67±2,52 cd
3	2,99±0,02 b	0,70±0,02 a	0,16±0,04 a	22,00±3,00 bc
4	1,11±0,06 g	0,60±0,04 a	0,07±0,05 bcd	14,33±2,52 d
5	2,23±0,02 cd	0,62±0,04 a	0,07±0,05 bcd	14,33±3,21 d
6	2,30±0,02 c	0,61±0,06 a	0,05±0,02 cd	15,00±2,00 cd
7	1,58±0,13 f	0,66±0,03 a	0,06±0,02 cd	14,67±2,52 cd
8	1,88±0,13 f	0,64±0,03 a	0,05±0,01 cd	15,00±3,60 cd
9	1,76±0,04 ef	0,66±0,04 a	0,05±0,01 cd	15,33±3,21 cd
10	1,94±0,03 de	0,66±0,04 a	0,06±0,01 cd	14,33±2,52 d
11	2,91±0,15 b	0,64±0,03 a	0,17±0,04 a	17,33±2,52 cd
12	3,40±0,10 a	0,68±0,01 a	0,12±0,01 ac	35,30±1,38 a
13	2,23±0,25 cd	0,43±0,02 b	0,01±0,002 d	25,66±1,53 b

NOTA: Amostras de 1 a 11 = Barras de cereais elaboradas; Amostra 11 = Amostra controle; Amostra 12 = trigo fermentado com *A. brasiliensis* e minerais; Amostra 13 = trigo *in natura*. Os resultados obtidos estão apresentados na forma de média ± desvio padrão (n=3). Letras iguais nas colunas não diferem significativamente (p<0,05). Zn = zinco; Cu = cobre; Se = selênio; Ca = cálcio.

Os teores de minerais das amostras de barras de cereais com *A. brasiliensis* e adição desses minerais variaram de 1,11 a 2,99 mg.100 g⁻¹ para o zinco; para o cobre não houve diferença significativa entre as amostras, apenas o trigo *in natura* diferiu das demais (p<0,05), a faixa de variação do cobre nas barras de cereais foi de 0,60 a 0,70 mg.100 g⁻¹. Para o selênio 0,05 a 0,16 mg.100 g⁻¹ nas barras de cereais com trigo fermentado e para o cálcio, 14,33 a 22,00 mg.100 g⁻¹.

O trigo *in natura* obteve um teor médio de 2,23 mg.100 g⁻¹ (Zn), 0,43 mg.100 g⁻¹ (Cu), 0,01 mg.100 g⁻¹ (Se) e 25,66 mg.100g⁻¹ (Ca). Esses valores foram próximos aos relatados pela base de dados USDA (2012), onde 100 g de grãos de trigo contêm: 25 mg de cálcio, 2,78 mg de zinco, 0,41 mg de cobre e 70 µg de selênio. Os teores de minerais verificados para o trigo *in natura* é inferior ao obtido para o trigo fermentado com *A. brasiliensis*, e também para as barras de cereais formuladas.

O trigo fermentado com *A. brasiliensis* obteve os maiores teores de zinco e cálcio das amostras com diferenças estatísticas (p<0,05), os resultados obtidos para o teor de minerais nessa amostra foram: 3,40 mg.100 g⁻¹ (Zn), 0,68 mg.100 g⁻¹ (Cu), 0,12 mg.100 g⁻¹ (Se) e 35,30 mg.100 g⁻¹ (Ca). Não foram encontrados dados na literatura para estabelecer uma comparação para essa amostra.

Freitas e Moretti (2006) avaliaram o teor de minerais em barras de cereais funcionais a base de proteína texturizada de soja, aveia e gérmen de trigo, eles obtiveram 82,00 mg.100 g⁻¹ de cálcio, 0,36 mg.100 g⁻¹ de cobre e 2,95 mg.100 g⁻¹ de zinco.

Carvalho et al. (2008) verificaram o teor de minerais em barras de cereais com amêndoas de chichá, sapucaia e castanha-do-gurguéia, complementadas com casca de abacaxi, obtiveram para a barra de cereais com chicha: 2,3 mg.100 g⁻¹ de Zn, 0,5 mg.100 g⁻¹ de Cu e 0,3 mg.100 g⁻¹ de Ca; para a barra de cereais com sapucaia: 1,9 mg.100 g⁻¹ de Zn, 0,5 mg.100 g⁻¹ de Cu e 0,4 mg.100 g⁻¹ de Ca; para a barra com castanha-do-gurguéia: 1,6 mg.100 g⁻¹ de Zn, 0,2 mg.100 g⁻¹ de Cu e 0,4 mg.100 g⁻¹ de Ca.

Em pesquisa realizada em base de dados da literatura nacional e internacional não foi relatada a avaliação de selênio em barras de cereais, porém Ferreira et al. (2002) verificaram os teores de selênio em farinhas de trigo nos estados brasileiros de Espírito Santo, Goiás, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Pernambuco, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e São Paulo, os

pesquisadores relataram uma faixa de 5,6 a 6,4 µg de selênio por 100 g de farinha de trigo.

A legislação brasileira (BRASIL, 2005) recomenda para adultos uma ingestão diária de 7 mg de zinco, 900 µg de cobre, 34 µg de selênio e 1000 mg de cálcio. Desse modo, a ingestão de uma barra de cereais com trigo fermentado com *A. brasiliensis* e minerais (± 25 g), por exemplo, a amostra 3 (com 20% desse trigo), pode contribuir para 10,70% da IDR de Zn, 19,44% de Cu, 117,64% de Se e 0,55% de Ca. A ingestão de uma barra de cereais (amostra 3) ultrapassa em 17,64% o recomendado para selênio pela IDR brasileira, porém a suplementação de selênio até 200 µg por dia não é considerada tóxica para adultos, e melhora as respostas imunes (ESTRADA et al., 2009).

4.6 ANÁLISE DE COR

Sendo a cor um dos quesitos de avaliação sensorial e decisão de aquisição de um produto, torna-se fundamental realizar análises que avaliem possíveis alterações nessa característica do produto. Assim, na TABELA 18 estão os resultados obtidos na análise de cor das barras de cereais elaboradas neste estudo, os resultados são expressos em relação ao controle (amostra 11).

TABELA 18 – PARÂMETROS OBTIDOS NA ANÁLISE DE VARIAÇÃO DE COR DAS BARRAS DE CEREAIS COM *Agaricus brasiliensis* E MINERAIS EM RELAÇÃO À AMOSTRA CONTROLE

Amostra	ΔL^*	Δa^*	Δb^*	ΔE
1	0,44 \pm 0,22 h	0,98 \pm 0,06 a	-1,78 \pm 0,25 f	2,10 \pm 0,17 g
2	1,69 \pm 0,62 g	0,38 \pm 0,53 b	-0,12 \pm 0,39 de	1,86 \pm 0,52 g
3	9,88 \pm 1,50 d	-2,41 \pm 0,38 e	1,03 \pm 0,45 b	10,23 \pm 1,56 d
4	4,11 \pm 0,27 f	0,04 \pm 0,09 bc	-0,68 \pm 0,17 e	4,17 \pm 0,27 f
5	13,93 \pm 0,39 b	-3,23 \pm 0,04 f	0,61 \pm 0,09 bc	14,31 \pm 0,39 b
6	16,42 \pm 0,21 a	-2,25 \pm 0,11 e	1,96 \pm 0,38 a	16,69 \pm 0,18 a
7	7,64 \pm 0,17 e	-1,43 \pm 0,12 d	-0,48 \pm 0,07 e	7,79 \pm 0,16 e
8	2,82 \pm 0,22 g	-0,27 \pm 0,05 c	0,58 \pm 0,05 bc	2,89 \pm 0,23 g
9	12,61 \pm 0,38 c	-2,19 \pm 0,09 e	0,28 \pm 0,33 cd	12,81 \pm 0,37 c
10	14,35 \pm 0,13 b	-3,07 \pm 0,04 f	2,00 \pm 0,08 a	14,81 \pm 0,13 b

NOTA: Os resultados obtidos estão apresentados na forma de média \pm desvio padrão (n=3). Letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente (p<0,05). L* (luminosidade), a* (croma verde-vermelho), b* (croma azul-amarelo), ΔE^* (diferença de cor entre a amostra analisada e a amostra controle).

Os dados apresentados na TABELA 18 revelam que a maioria das amostras diferiu estatisticamente ($p < 0,05$). A amostras 1 apresentou o maior índice de variação da cromaticidade a^* , ou seja, tendência à cor avermelhada. Analogamente, as amostras 6 e 10 apresentaram os maiores índices de variação da cromaticidade b^* , isto é, tendência à coloração amarela.

Os valores de ΔL^* tenderam a uma maior variação à medida que o trigo fermentado foi incorporado às formulações, e a menor variação da luminosidade foi verificada para a amostra 1, ou seja, a amostra com 20% de aveia e sem trigo fermentado. Silva et al. (2009 a) observaram escurecimento gradativo à medida que aumentaram os índices de farinha de resíduo de maracujá em barras de cereais. Leoro et al. (2010) também observaram que o aumento na quantidade de farelo de maracujá adicionado na formulação diminuiu o valor de L^* , produzindo extrusados mais escuros.

Sun-Waterhouse et al. (2010) desenvolveram uma barra de cereais funcional com adição de extrato de maçã rico em polifenóis, à medida que aumentaram o teor desse extrato obtiveram uma diminuição de L^* , porém isso não afetou a aceitabilidade do produto.

A superfície de resposta de modelo cúbico ($R^2 = 98,92\%$) para o parâmetro colorimétrico ΔE , ou seja, a variação da cor em função dos componentes da mistura nas barras de cereais formuladas pode ser observada na FIGURA 20.

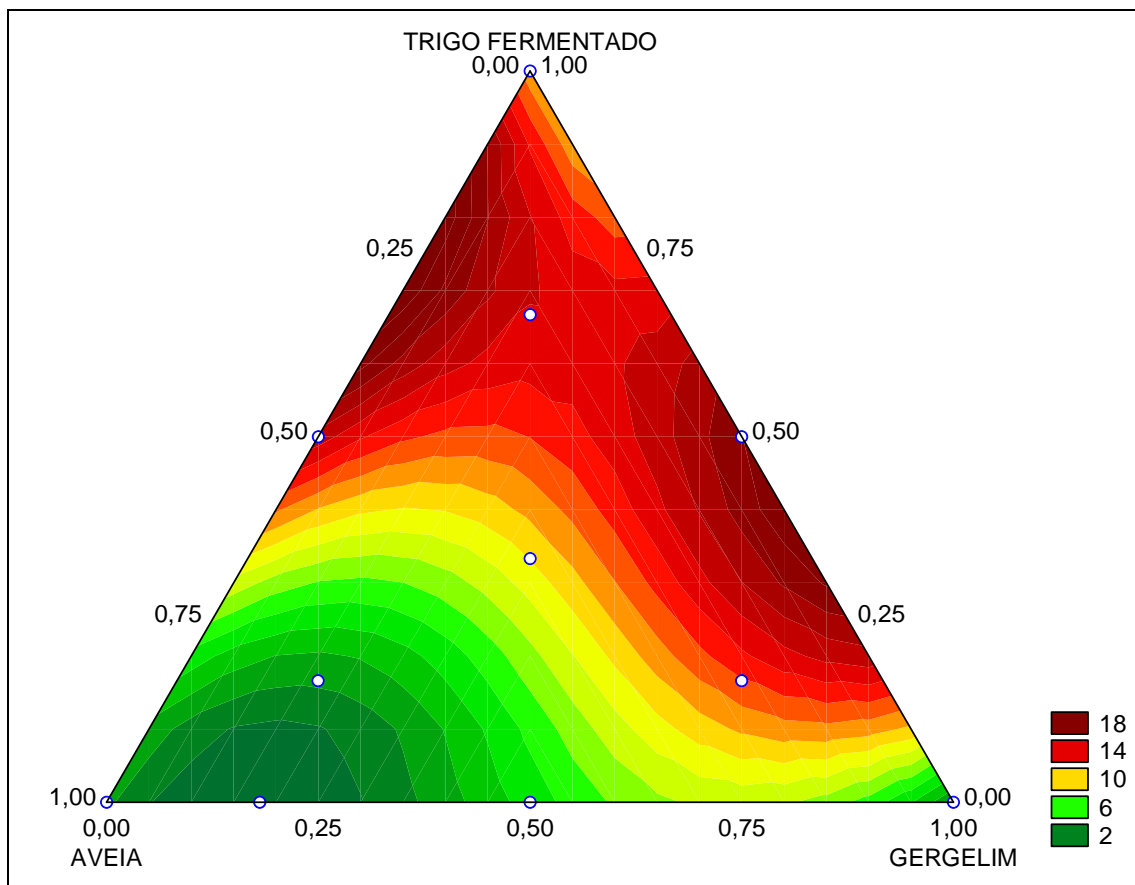


FIGURA 20 - DIAGRAMA TRIANGULAR DA VARIAÇÃO DA COR EM FUNÇÃO DOS COMPONENTES DA MISTURA AVEIA, GERGELIM E TRIGO FERMENTADO COM *A. brasiliensis* E MINERAIS NAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS

NOTA: Os valores da legenda referem-se aos teores de ΔE (variação da coloração)

Na FIGURA 20 verifica-se que quanto maior a quantidade de trigo fermentado com *A. brasiliensis* e minerais e menor a quantidade de aveia maior será o efeito da variação de cor nessas misturas, de acordo com o parâmetro colorimétrico ΔE , ou seja, maior variação de coloração é verificada. Isso também é evidenciado pelos dados de ΔE da TABELA 18, onde as amostras apresentaram diferença estatística (IC = 95%) e os menores índices de variação foram verificados para as amostras 1 e 2, ou seja, amostras com adição de apenas um ingrediente variável, 20% de aveia e 20% de gergelim, respectivamente.

Borges et al. (2011) avaliaram parâmetros colorimétricos de produtos integrais e atribuíram uma maior variação de cor a esses produtos, ou seja, quanto maior a quantidade de partes integrais dos cereais maior a variação de cor no produto e menor o índice L^* . Similarmente, nesse trabalho, as barras com menores índices de luminosidade, e consequentemente de ΔE , são aquelas com trigo fermentado com *A. brasiliensis* e minerais.

4.7 ANÁLISES FÍSICAS, QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DAS BARRAS DE CEREAIS

4.7.1 Análises físicas e químicas

A caracterização física e química das barras de cereais é apresentada na TABELA 19. Em relação ao teor de umidade não houve diferença estatística ($p < 0,05$). Os teores obtidos ficaram na faixa de 8,79% a 10,76% e todas apresentaram resultados de umidade inferiores a 15,00%, limite estabelecido pela Resolução CNNPA nº 12 de 1978, no que se refere aos produtos à base de cereais (BRASIL, 1978). Altos teores de umidade favorecem reações indesejáveis, como o escurecimento não-enzimático e o crescimento de micro-organismos, além disso, umidades elevadas reduzem a crocância, atributo sensorial característico das barras de cereais.

Os teores de cinzas (resíduo mineral fixo) não apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$) entre as amostras avaliadas. O teor médio de cinzas observado ($1,19 \text{ g.}100 \text{ g}^{-1}$) foi superior ao constatado por Brito et al. (2004) em barra de cereal caseira (1,13%).

Os teores de proteína variaram de 8,50% a 12,18%. As amostras 3, 5, 6 e 10 não diferiram estatisticamente ($p < 0,05$) entre si diferindo das demais, e obtiveram os maiores índices proteicos: 12,18%, 11,04%, 11,05% e 11,83 %, respectivamente. Os valores encontrados são superiores ao valor médio de $6,27 \text{ g.}100 \text{ g}^{-1}$ obtido por Brito et al. (2004). E maiores que os obtidos por Santos et al. (2011) que utilizaram a jaca desidratada e o farelo da semente na constituição das barras de cereais e obtiveram um valor médio de $4,70 \text{ g.}100 \text{ g}^{-1}$ de proteínas.

TABELA 19 – CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E QUÍMICA DAS BARRAS DE CEREAIS

Amostra	Umidade (%)	Cinzas (%)	Proteínas (%)	Lipídios(%)	Fibras (%)	Carboidratos*	Valor calórico**
1	9,52±1,13 a	1,18±0,04 a	9,76±0,06 cde	6,15±0,09 bc	8,83±0,39 a	64,56±0,93 a	88,15
2	9,66±0,12 a	1,01±0,002 a	9,21±0,15 de	5,15±0,24 d	8,14±0,20 a	66,82±0,24 a	87,63
3	10,79±0,58 a	1,10±0,09 a	12,18±0,19 a	5,34±0,03 d	8,69±0,04 a	61,89±0,30 b	86,10
4	9,86±0,38 a	1,37±0,01 a	8,50±0,25 e	5,57±0,06 cd	8,87±0,10 a	65,81±0,67 a	86,86
5	8,79±0,27 a	1,22±0,18 a	11,04±0,04 ac	5,36±0,03 d	8,92±0,41 a	64,67±0,85 a	87,78
6	9,07±0,35 a	1,17±0,09 a	11,05±0,02 ac	6,29±0,13 ab	8,28±0,29 a	64,15±0,26 a	89,34
7	10,86±1,49 a	1,12±0,12 a	10,57±0,58 bcd	6,00±0,12 bc	9,03±1,12 a	62,41±2,94 a	86,49
8	9,63±0,40 a	1,38±0,06 a	9,56±0,75 de	5,58±0,06 e	8,73±0,10 a	65,11±1,17 a	82,98
9	10,09±0,14 a	1,11±0,11 a	9,85±0,08 cde	5,54±0,19 e	8,75±0,25 a	64,66±0,27 a	82,99
10	9,13±0,28 a	1,19±0,16 a	11,83±0,61 ab	5,19±0,18 e	8,58±0,44 a	64,06±0,23 a	84,03
11***	9,86±0,46 a	1,20±0,04 a	8,97±0,01 e	6,72±0,07 a	7,54±0,59 a	65,72±1,16 a	89,82

NOTA: Os resultados obtidos estão apresentados na forma de média ± desvio padrão (n=3). *Valor resultante da soma das médias de umidade, cinzas, fibras, proteínas e lipídios subtraída de 100. **Valor calórico expresso em kcal.25 g⁻¹, ou seja, valor por unidade. Letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente (p<0,05). ***Amostra controle.

TABELA 19 – CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E QUÍMICA DAS BARRAS DE CEREAIS (Continuação)

Amostra	Açúcares redutores (%)	Açúcares totais (%)	Aw	pH
1	11,51±0,01 d	25,59±0,06 de	0,554±0,01 d	7,09±0,03 a
2	11,64±0,04 d	25,44±0,15 e	0,578±0,01 a	6,60±0,01 b
3	16,68±0,04 a	27,79±0,28 a	0,528±0,01 f	6,01±0,12 efg
4	12,87±0,17 c	25,98±0,01 ce	0,576±0,01 ab	6,49±0,07 bc
5	16,35±0,21 ab	27,35±0,21 ab	0,576±0,01 ab	6,21±0,01 df
6	13,32±0,21 c	26,50±0,42 bcd	0,569±0,01 c	6,03±0,11 efg
7	15,46±0,28 b	27,15±0,07 ab	0,579±0,01 ab	6,17±0,03 dg
8	15,85±0,06 b	26,80±0,10 ac	0,566±0,01 c	6,34±0,03 cd
9	12,63±0,21 c	25,88±0,02 ce	0,545±0,01 e	6,33±0,07 cd
10	15,88±0,14 b	25,45±0,62 e	0,553±0,03 d	6,13±0,03 dg
11***	11,59±0,28 d	25,05±0,07 e	0,571±0,01 bc	6,22±0,03 de

NOTA: Os resultados obtidos estão apresentados na forma de média ± desvio padrão (n=3). Letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente (p<0,05). ***Amostra controle.

O conteúdo lipídico variou de 5,15% a 6,72 %. Os valores obtidos estão próximos a 5,53%, valor médio reportado por Gutkoski et al. (2007) para barras de aveia; porém são inferiores ao valor médio de 7,50% obtido por Silva et al. (2009 b) para barras de cereais com resíduo industrial de maracujá.

Os resultados para os teores de fibras não diferiram entre si ($p < 0,05$). De acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 1998), todas as formulações de barras de cereais elaboradas neste estudo podem ser classificadas como ricas em fibras alimentares, uma vez que a referida legislação exige um mínimo de 6 g. 100 g⁻¹ de fibras (para alimentos sólidos) e a média das amostras com trigo fermentado com *A. brasiliensis* e minerais foi de 8,73 g.100 g⁻¹. Todas as amostras apresentaram teores superiores as elaboradas por Brito et al. (2004) que obtiveram 3,44 g. 100 g⁻¹ de fibras em barras de cereais caseiras; e superiores às de Baú et al. (2010) que desenvolveram barras de cereais com albumina e soja, com valor médio de 6,04 g. 100 g⁻¹ de fibras.

Os teores de carboidratos não apresentaram diferenças significativas, exceto para a amostra 3, formulação com 20% de trigo fermentado com *A. brasiliensis* e minerais. Nessa amostra, verificou-se 5,00% a menos de carboidratos que o valor médio das demais. Esses valores estão de acordo com os reportados por Souza et al. (2011) e Freitas e Moretti (2006), porém são inferiores aos verificados por Lima et al. (2012).

O valor calórico médio foi de 86,56 kcal por unidade de 25 g. Os resultados obtidos foram inferiores aos de Santos et al. (2011); Souza et al. (2011) e Dessimoni-Pinto et al. (2010), com valores de 103,93, 104,61 e 99,07 kcal, respectivamente.

Em relação aos valores de açúcares totais e redutores os valores médios obtidos foram 26,27% e 13,54%, respectivamente. Esses valores estão próximos aos reportados por Rutz et al. (2011) 28,32% para açúcares totais e 12,17% para redutores. E diferentes dos reportados por Becker e Krüger (2010), que obtiveram valores de 23,80% para açúcares totais e 20,50% para açúcares redutores para barras de cereais com sementes de melão, abóbora e melancia, e farinha da casca do maracujá.

As barras de cereais apresentaram atividades de água (A_w) na faixa de 0,528 a 0,579, valores que asseguram aos produtos estabilidade microbiológica, pois de acordo com Scott (1957) e Pelizer et al. (2003), produtos alimentícios com

$A_w < 0,60$ são microbiologicamente estáveis. Os valores obtidos encontram-se próximos de valores registrados na literatura. Porém há uma faixa diversa de valores registrados, isso pode ser atribuído à grande diversidade de ingredientes utilizados nesses produtos. Há relatos da inclusão de quitosana (Lima et al., 2012), cascas de abacaxi (Souza et al., 2011), farinha de banana de verde (Santos, 2010), entre outros ingredientes.

Silva et al. (2009) acrescentaram resíduo industrial de maracujá à barra de cereal, eles obtiveram resultados de $A_w = 0,550$ para a formulação controle (sem resíduo) e $0,580$ para a formulação com 30% de substituição por resíduo. Freitas (2005) verificou uma A_w média de $0,642$ para barras de cereais com proteína de soja e gérmen de trigo. Gutkoski et al. (2007) desenvolveram barras de cereais à base de aveia com alto teor de fibra alimentar e obtiveram uma média de $0,650$ de atividade de água para as barras de cereais elaboradas. Lima et al. (2012) obtiveram valores de $0,437$ de A_w em barras de cereais adicionadas de quitosana e ômega-3. Rocha et al. (2009) avaliaram a A_w em barras de cereais com micro-cápsulas de caseína hidrolisada e obtiveram uma faixa de $0,500$ a $0,610$.

O valor médio obtido para o parâmetro pH foi de $6,33$, valor superior aos obtidos por Freitas (2005), que avaliou o pH de barras de cereais elaboradas com proteína de soja e gérmen de trigo. Os valores obtidos estavam na faixa de $4,83$ a $5,32$. O valor médio obtido também foi superior ao obtido por Sampaio, Ferreira e Canniatti-Brazaca (2009) para barras de cereais enriquecidas com ferro (pH médio = $5,35$). O resultado de pH foi inferior ao obtido por Rodrigues et al. (2011), os pesquisadores obtiveram um valor médio de $6,63$ para pH em determinação do controle de qualidade da barra de cereal de castanha do Pará.

4.7.2 Análises microbiológicas

Os resultados da análise microbiológica das amostras estão na TABELA 20. Esses resultados expressam as avaliações microbiológicas de Coliformes a 35 e 45 °C, *Salmonella sp.* e *Bacillus cereus*, os quais se apresentaram dentro dos limites estabelecidos pela ANVISA (BRASIL, 2001).

TABELA 20 – RESULTADOS DAS ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS REALIZADAS NAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS

Análises	Resultados	Limites (BRASIL, 2001)
Coliformes a 35 °C (NMP.g ⁻¹)	< 3 NMP.g ⁻¹	10 ² NMP.g ⁻¹
Coliformes a 45 °C (NMP.g ⁻¹)	< 3 NMP.g ⁻¹	10 ² NMP.g ⁻¹
<i>Salmonella</i> sp. (UFC.g ⁻¹)	Ausência em 25 g ⁻¹	Ausência em 25 g ⁻¹
<i>Bacillus cereus</i> (UFC.g ⁻¹)	< 10 UFC.g ⁻¹	3 x 10 ³ UFC.g ⁻¹

Os resultados obtidos estão de acordo com os apontamentos de Gutkoski et al. (2007), que obtiveram resultados estáveis nas avaliações zero, 30 e 60 dias de armazenamento para *Bacillus cereus*, resultado esse provavelmente devido à baixa atividade de água dos produtos, a qual não ofereceu condições para o desenvolvimento microbiológico. Lima et al. (2012) também observaram resultados parecidos com os deste trabalho e com o de Gutkoski et al. (2007), e atribuíram a estabilidade microbiológica aos valores de pH e de atividade de água das barras de cereais elaboradas, pois as condições verificadas não se mostraram favoráveis ao desenvolvimento de micro-organismos

Logo, todas as amostras avaliadas no presente estudo encontraram-se dentro do limite pré-estabelecido pela legislação vigente e desse modo foram consideradas aptas para o consumo, ou seja, à próxima fase do trabalho: análise sensorial dos produtos.

4.9 ANÁLISE SENSORIAL DAS BARRAS DE CEREAIS

4.9.1 Teste de preferência

As médias aritméticas dos dados do teste (n = 50) estão apresentadas nos histogramas de médias na FIGURA 21.

Todas as amostras apresentaram médias dentro da região de aceitação, acima do valor 5,00 – referente ao conceito indiferente, ou seja, “nem gostei/nem desgostei” na escala (9 pontos) utilizada.

Os histogramas de preferência foram variáveis, porém a distribuição de frequências se aproxima de uma distribuição normal, conforme pode ser observado pelo traçado da curva de distribuição normal nos histogramas da FIGURA 21.

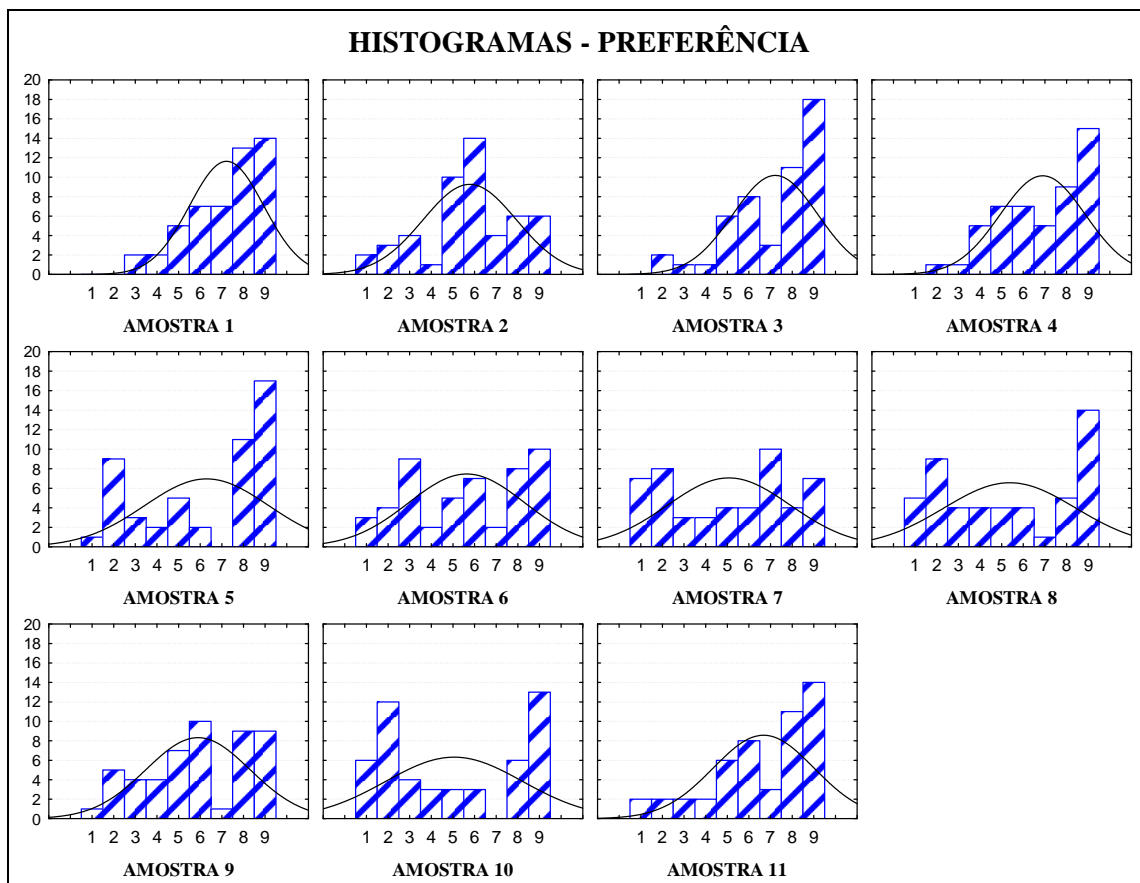


FIGURA 21 - HISTOGRAMAS DAS MÉDIAS DA ANÁLISE SENSORIAL DE PREFERÊNCIA DAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS

NOTA: Eixo horizontal (x) – valor das médias das notas atribuídas; eixo vertical (y) – número de vezes que a nota foi atribuída pelos julgadores (n = 50)

As médias e seus desvios padrões são apresentados na TABELA 21, juntamente com a comparação de médias pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

As amostras 7, 8 e 10 foram significativamente menos preferidas ($p < 0,05$) em relação às demais, com médias de 5,06, 5,36 e 5,04, respectivamente. As demais amostras não diferiram estatisticamente das amostras mais preferidas com média de 7,20, amostras 1 e 3. A amostra 3 era constituída de 20% de trigo fermentado com *A. brasiliensis* e minerais, desse modo a adição da quantidade máxima prevista no estudo para o trigo fermentado não proporcionou efeito negativo sobre a preferência sensorial das barras de cereais.

Escobar et al. (1998) realizaram teste de preferência em barras de cereais com amendoim e obtiveram notas variando entre 5,50 a 7,10. Dutcosky et al. (2006), em um delineamento experimental *simples*-centroide com barras de cereais adicionadas de prebióticos (inulina, oligofrutossacarídeo e goma acácia), avaliaram a preferência dos julgadores, cuja pontuação variou entre 5,46 a 7,22. Os resultados de preferência das barras de cereais apresentados pelos referidos estudos foram valores próximos aos deste trabalho.

TABELA 21 – RESULTADOS DA ANÁLISE DE PREFERÊNCIA PARA AS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS

Misturas dos componentes avaliados	Amostra	Média*
100,00% AV	1	7,20±1,71 a
100,00% GE	2	5,76±2,15 ad
100,00% TR	3	7,20±1,96 a
50,00% AV + 50,00% GE	4	6,88±1,96 ab
50,00% AV + 50,00% TR	5	6,28±2,86 ad
50,00% GE + 50,00% TR	6	5,62±2,67 ad
33,33% AV + 33,33% GE +33,33% TR	7	5,06±2,82 cd
66,66% AV + 16,66% GE + 16,66% TR	8	5,36±3,03 bcd
16,66% AV +66,66% GE +16,66% TR	9	5,88±2,39 ad
16,66% AV + 16,66% GE + 66,66% TR	10	5,04±3,15 d
16,30% AV + 3,70% GE	11	6,66±2,32 ac

NOTA: *Média aritmética ± Desvio padrão (n = 50). Aveia em flocos (AV), gergelim branco (GE) e trigo fermentado com *A. brasiliensis* e minerais (TR). Letras iguais na mesma coluna não indicam diferença estatística ($p < 0,05$).

O escore de notas obtido para as formulações foi próximo aos encontrados por Silva et al. (2009) e Brito et al. (2004), mas inferiores aos encontrados por Gutkoski et al. (2007) para produtos similares. Todos os pesquisadores referidos apontam que a preferência sensorial das barras de cereais diminuiu com o aumento de ingredientes com teor elevado de fibra alimentar.

Para a obtenção da equação que descreve o modelo para a preferência sensorial das barras de cereais por meio do delineamento *simplex*-centroide para misturas de três cereais (AV, GE e TR), o modelo cúbico foi utilizado e apresentou um coeficiente de determinação de 96,65% (R^2). O modelo final obtido pela regressão utilizando como resposta a preferência sensorial dos julgadores está descrito na EQUAÇÃO 10.

$$\begin{aligned} \text{PREFERÊNCIA} = & 7,17\text{AV} + 5,73\text{GE} + 7,17\text{TR} + 1,49\text{AV} \cdot \text{GE} - 3,79\text{AV} \cdot \text{TR} - 3,55\text{GE} \cdot \text{TR} - \\ & 3,19\text{AV} \cdot \text{GE} \cdot \text{TR} - 4,96\text{AV} \cdot \text{GE}(\text{AV} - \text{GE}) - 2,96\text{AV} \cdot \text{TR}(\text{AV} - \text{TR}) + 9,08\text{GE} \cdot \text{TR}(\text{GE} - \text{TR}) \end{aligned}$$

(EQUAÇÃO 10)

Na FIGURA 22 visualiza-se o Diagrama de Pareto que contém os coeficientes lineares, sistemas binários e interações dos componentes AV, GE e TR para a verificação da preferência dos julgadores.

Por meio dos resultados plotados na FIGURA 22, verifica-se que os três ingredientes AV, GE e TR apresentaram efeitos similares e mais acentuados sobre a preferência do consumidor, isso também é demonstrado pelos coeficientes da Equação 10. Os demais coeficientes não foram significativos ($p < 0,05$). A interação AVxGE demonstrou efeito sinérgico enquanto as demais demonstraram efeitos antagônicos na preferência.

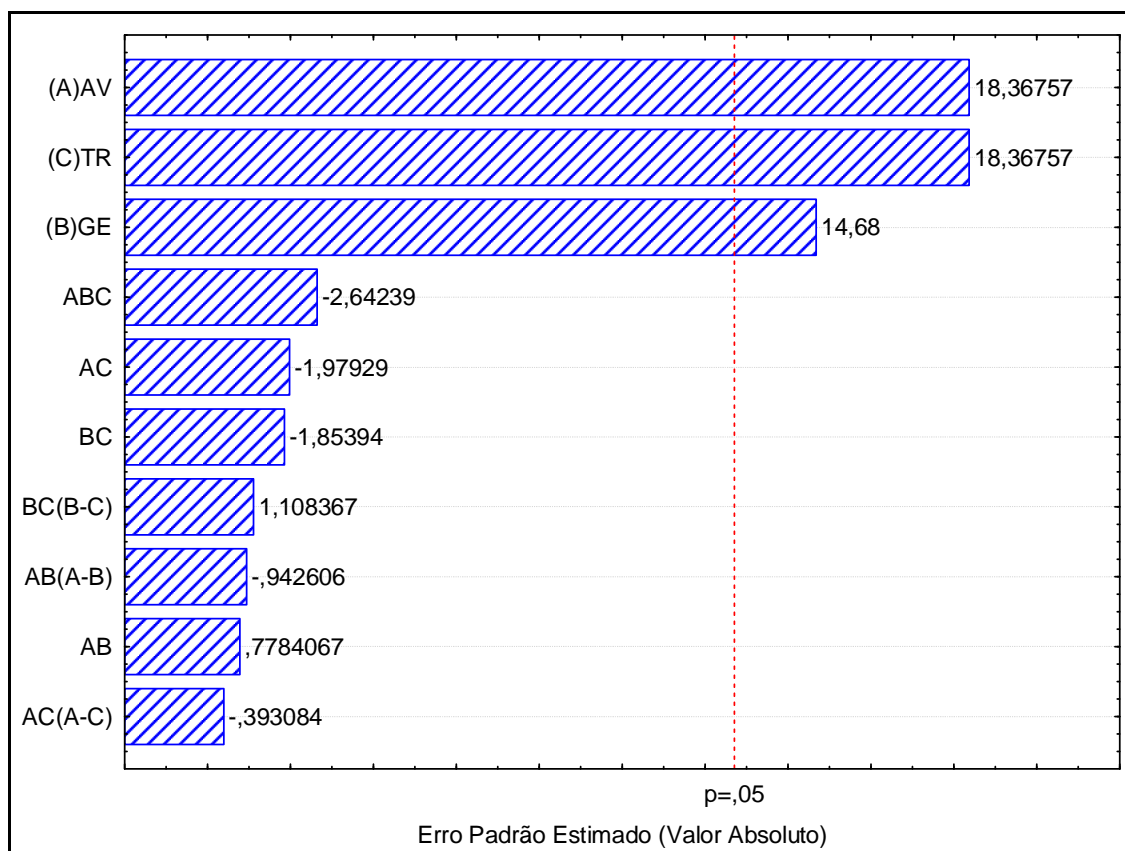


FIGURA 22 - DIAGRAMA DE PARETO DOS EFEITOS PADRÕES PARA ANÁLISE SENSORIAL DE PREFERÊNCIA DOS JULGADORES PARA AS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS

A EQUAÇÃO 10 foi utilizada para gerar o diagrama triangular apresentado na FIGURA 23, no qual se pode observar que as amostras preferidas (nota > 7) foram obtidas nas regiões experimentais com as maiores proporções de aveia ou trigo fermentado na mistura de cereais.

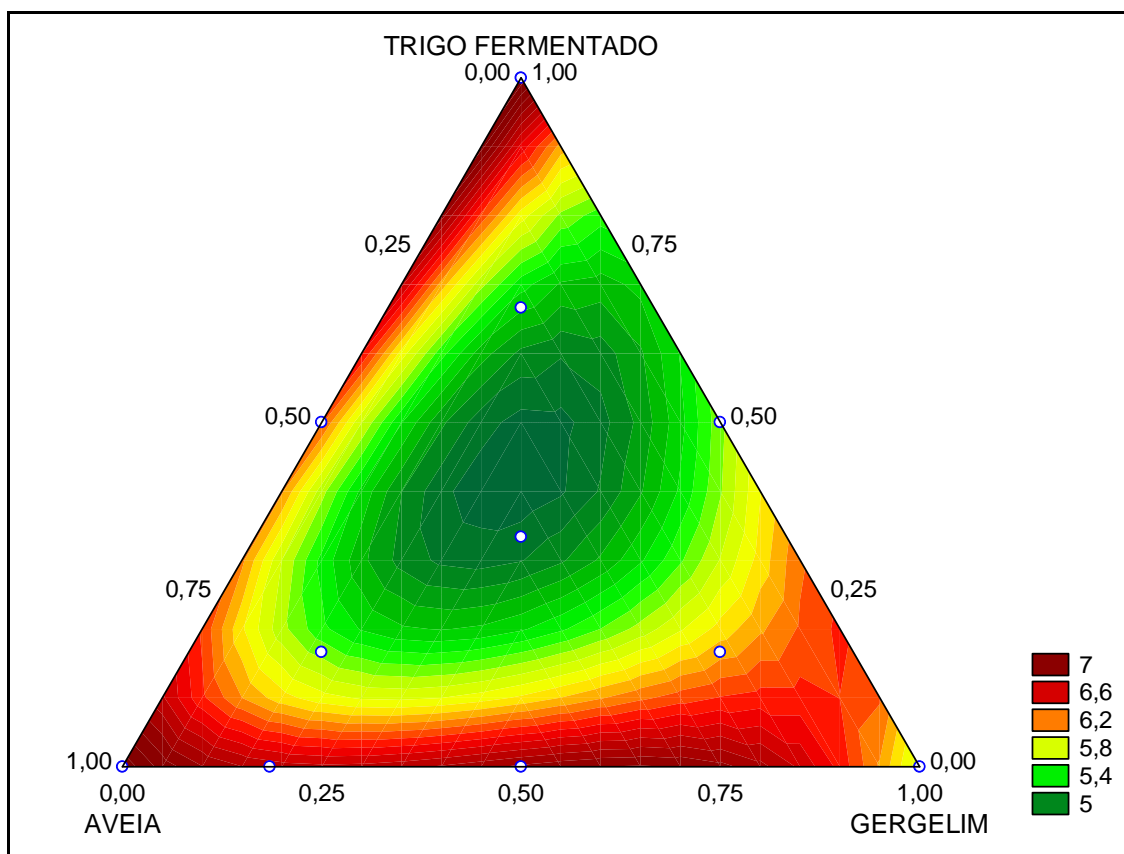


FIGURA 23 - DIAGRAMA TRIANGULAR DA ANÁLISE SENSORIAL DE PREFERÊNCIA DAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS PARA MISTURAS CONTENDO AVEIA, GERGELIM E TRIGO FERMENTADO COM *Agaricus brasiliensis* E MINERAIS

NOTA: Os valores da legenda referem-se aos 9 pontos da escala hedônica equivalentes ao grau de “gostar” ou “desgostar” das amostras

Na FIGURA 23 observa-se que a região experimental central apresenta os menores índices de notas, ou seja, as formulações do ponto central obtiveram menores índices de preferência, as amostras 7, 8 e 10, cujas médias da análise de preferência foram 5,06; 5,36 e 5,04, respectivamente.

Os dados da TABELA 21 ressaltam que as amostras 1 e 3 obtiveram as maiores médias (7,20 para ambas) e isso também é verificado na FIGURA 23, onde as regiões experimentais com maiores índices de preferência são justamente as

regiões equivalentes às formulações 1 e 3, amostras com 100% aveia e 100% de trigo fermentado com *A. brasiliensis* e minerais, respectivamente.

4.9.2 Perfil de Atributos

As médias das notas dos atributos avaliados (cor, aroma, sabor doce, sabor residual, textura e aparência) estão descritos na TABELA 22. Dos resultados da referida tabela para o atributo cor, apenas a amostra 7 apresentou diferença estatística ($p < 0,05$), com média igual a 5,10.

Para o atributo aroma, não houve diferença significativa (nível de 5% de probabilidade) entre as amostras. As médias obtidas para esse atributo foram superiores às relatadas por Brito et al. (2004) para barras de cereais caseiras, a média obtida pelos pesquisadores para o aroma foi de 3,60.

Em relação ao sabor doce, as amostras 7, 8 e 10 diferiram estatisticamente da amostra 3, a qual obteve maior índice para esse quesito. Isso pode ser atribuído ao fato do micélio de *A. brasiliensis* possuir aroma frutado e doce, semelhante ao de amêndoas (STAMETS, 2000), uma vez que a amostra 3 possui 100% de trigo fermentado com *A. brasiliensis* e minerais em relação à quantidade de aveia e gergelim.

O sabor é um dos atributos sensoriais mais valorizados pelos consumidores no momento da compra. Um estudo realizado no Reino Unido por Bower e Whitten (2000) com estudantes avaliou os fatores que influenciam a aquisição de barra de cereais. Oito marcas comerciais de variados sabores (frutas, chocolate, nozes) foram avaliadas, e os resultados mostraram que, no momento da compra, a ordem de importância é o sabor, seguido do preço e da aparência da barra de cereais.

Aramouni e Abu-Groush (2011) avaliaram a doçura em barras de cereais de gérmen de trigo e obtiveram uma média de 4,97, valor superior apenas à média da amostra 7 deste estudo.

Para o atributo sabor residual as amostras 7 e 10 obtiveram as menores médias, diferindo estatisticamente ($p < 0,05$) das amostras 1 e 3. Embora a amostra 3 possuísse o maior teor de trigo fermentado, isso não acarretou em sabor residual, ou gosto de fermentado, e foi superior em sabor doce.

TABELA 22 – MÉDIAS DAS NOTAS ATRIBUÍDAS NOS TESTES SENSORIAL DE PERFIL DE ATRIBUTOS DAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS

Amostra	Atributo avaliado					
	Cor	Aroma	Sabor doce	Sabor residual	Textura	Aparência
1	6,60±1,81 a	6,16±2,46 a	6,94±2,08 ab	6,88±2,07 a	6,72±2,30 a	6,78±2,22 a
2	5,40±2,08 a	5,16±2,36 a	5,58±2,36 acd	5,72±2,26 ab	5,40±2,36 ac	5,44±2,38 ab
3	6,82±2,41 a	6,02±2,73 a	7,04±2,13 a	6,94±2,15 a	6,92±2,17 a	6,50±2,37 ab
4	6,46±2,43 a	5,90±2,53 a	6,52±2,26 ac	6,40±2,32 ab	6,52±2,23 ab	6,40±2,34 ab
5	5,82±2,94 a	5,08±3,06 a	6,12±2,97 acd	5,76±3,09 ab	6,32±2,84 ac	6,10±3,06 ab
6	5,64±2,65 a	4,94±2,98 a	5,42±2,75 acd	5,46±2,70 ab	5,68±2,73 ac	5,22±2,82 ab
7	5,10±2,78 b	4,74±2,86 a	4,78±2,86 d	4,94±2,89 b	4,98±2,85 bc	4,88±2,93 b
8	5,34±3,01 a	5,14±3,04 a	5,34±3,06 bcd	5,36±3,03 ab	4,98±3,09 bc	5,04±3,06 b
9	5,64±2,56 a	5,56±2,49 a	5,86±2,43 acd	5,70±2,58 ab	5,52±2,62 ac	5,60±2,42 ab
10	5,20±3,15 a	4,62±3,15 a	5,16±3,11 cd	5,04±3,15 b	4,66±3,18 c	4,88±3,16 b
11*	6,44±2,56 a	6,34±2,47 a	6,42±2,57 acd	6,42±2,57 ab	6,40±2,43 ab	6,78±2,43 a

NOTA: Valores apresentados como Média aritmética ± Desvio padrão (n = 50). * Amostra controle. Letras iguais na mesma coluna não indicam diferença estatística (p<0,05).

Em relação à textura as amostras 7, 8 e 10 apresentaram as menores médias, onde interpretou-se o quesito textura como crocância do produto, num primeiro momento. Todas as médias para esse quesito foram superiores às obtidas por Aramouni e Abu-Groush (2011) para a textura em barras de cereais de gérmen de trigo e uma média de 4,21 para às com 6% de glicerina e 4,04 para as com 3% de glicerina, comprovando-se que os consumidores preferiram barras de cereais com maior maciez e menor crocância.

Quanto à aparência das barras de cereais, as amostras 7, 8 e 10 apresentaram os menores índices quanto a esse atributo, e foram diferentes significativamente ($p < 0,05$) das amostras 1 e 11, amostras com maior média para o atributo. As amostras 1 e 11 são as amostras que contêm os maiores teores de aveia.

Freitas e Moretti (2006) avaliaram sensorialmente três formulações de barra de cereais funcionais sabor banana e obtiveram notas inferiores aos obtidos neste trabalho para o atributo aparência (4,00-6,00). Brito et al. (2004), em barras de cereais caseiras, a aparência obteve médias na faixa de 4,20–6,60.

Silva et al. (2009 a) avaliaram sensorialmente barras de cereais com resíduo de maracujá e obtiveram uma média de 6,40 para o atributo aparência, valor próximo aos obtidos neste estudo. Esses dados revelam que a adição de farinha integral (estudo de Silva et al., 2009 a) ou de trigo fermentado não afetam na aparência geral do produto. Desse modo, a adição do trigo fermentado pode melhorar o produto nutricionalmente, não afetando sua aparência.

4.9.3 Perfil de Atitude

Para o Perfil de Atitude, os julgadores foram inquiridos, em relação à cada amostra avaliada, se os mesmos adquiririam ou não aquela amostra em questão. Assim, com base nos dados gerados nesse questionamento, foi gerada a FIGURA 24 que contém a frequência da resposta “SIM”, ou seja, uma resposta favorável à aquisição do produto, a frequência da resposta “NÃO” e das respostas nulas.

Os dados apresentados no histograma de frequência da intenção de compra (aquisição) das barras de cereais permitem a seguinte analogia: os consumidores estão acostumados com as barras comerciais, as quais apresentam teores de aveia em flocos maior que a adição de outros ingredientes. É possível essa analogia pela observação da FIGURA 24, onde as amostras com maior possibilidade de aquisição foram a amostra 1 (80% de intenção de aquisição) e amostra 11 (82% de intenção de aquisição), a amostra 1 possuía 20% de aveia e a amostra 11 continha 16,3% de aveia e 3,7% de gergelim. A amostra 3, cuja composição perfazia o limite máximo de adição do trigo fermentado com *A. brasiliensis* e minerais (20%), obteve 70% de

assertivas, ou seja, 70% dos julgadores que degustaram essa amostra tinham o interesse de adquiri-la para consumo habitual.

Silva et al. (2009 a) também verificaram a mesma tendência do presente estudo, quanto maior o índice de ingredientes integrais menor o índice de atitude de compra. Ryland et al. (2010) verificaram igualmente a mesma tendência, pois obtiveram médias de notas maiores para barras de cereais comerciais, no quesito intenção de compra, do que em barras de cereais nutritivas com lentilhas em flocos.

Queiroz et al. (2012) verificaram a aceitação e intenção de compra de barras de cereais com pipoca de sorgo, os pesquisadores relataram que tiveram boa aceitação do produto, confirmada pela elevada intenção de compra dos consumidores, com 88,8% e 80,6% de notas acima de 4, em Londrina-PR e no Rio de Janeiro-RJ, respectivamente. Em ambos os locais, a frequência do termo “certamente compraria” foi de 45%.

De acordo com Baú et al. (2010), a análise sensorial constitui um importante e eficaz meio para melhor conhecer a opinião do consumidor e sua intenção de compra em relação a um novo produto. Sendo de grande importância a verificação da intenção de compra do produto por parte da equipe de julgadores.

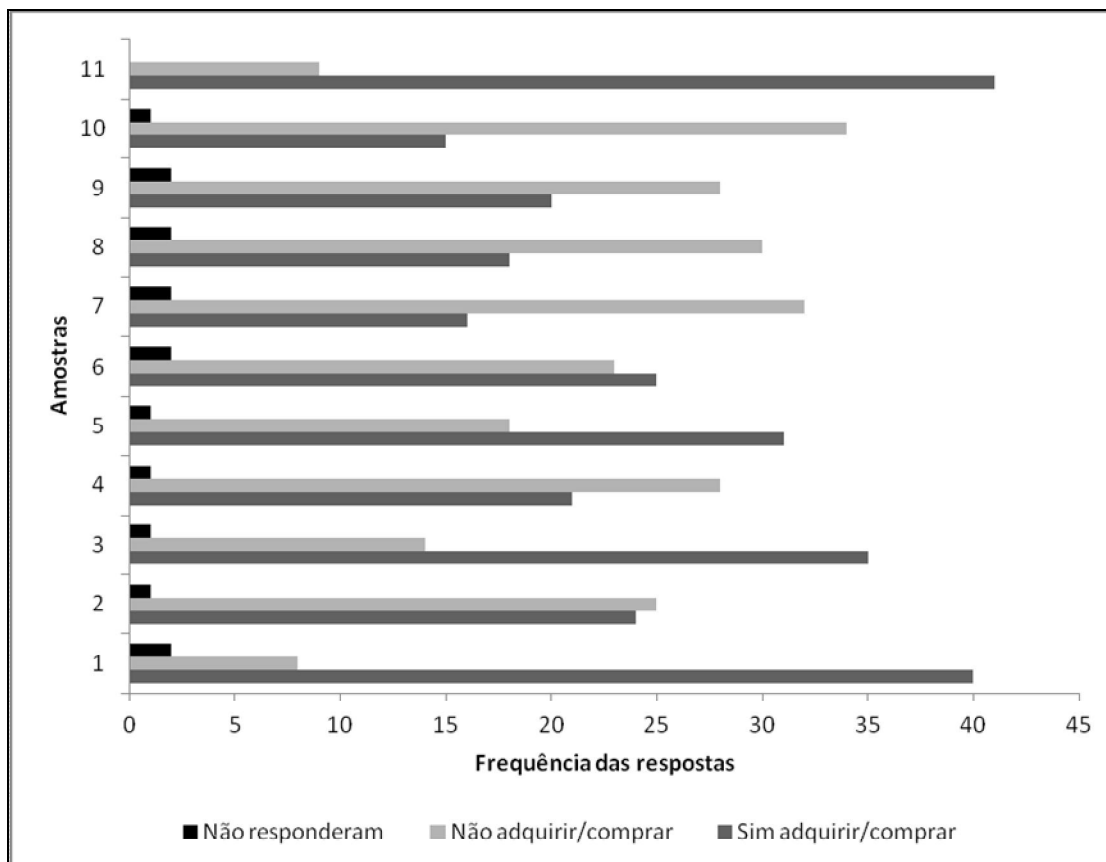


FIGURA 24 - HISTOGRAMA DE FREQUÊNCIA DA POSSÍVEL AQUISIÇÃO DAS BARRAS DE CEREIS AVALIADAS (n = 50)

4.9.4 Análise Descritiva Quantitativa (ADQ)

Dos 50 voluntários da primeira etapa de análise sensorial, foram selecionados 35 julgadores para participarem do teste de reconhecimento de gostos básicos e/ou percepção de sabor doce e/ou metálico. Dos selecionados que participaram do teste de reconhecimento, 14 julgadores obtiveram 100% de acerto em todos os testes, sendo então selecionados para participar do teste ADQ. Porém, em função de disponibilidade de tempo, permaneceram 12 julgadores. Segundo IAL (2008), o número mínimo é de 8 julgadores.

Os termos descritores sensoriais utilizados na ADQ e os materiais utilizados como referência para gerar esses termos são listados na TABELA 23.

TABELA 23 – DESCRITORES SENSORIAIS E MATERIAIS DE REFERÊNCIA UTILIZADOS NA ADQ

Termo descritor	Definição	Referência para extremo da escala “muito intenso”
Aparência		
Brilho	Aspecto brilhante ou opaco da barra de cereal	Pé-de-moleque
Compactação	Compactação dos ingredientes que compõem a barra de cereais; existência de “espaço vazio” entre os ingredientes.	Barra de cereal de coco
Odor		
Aroma de coco	Aroma característico de coco, percebido por aspiração antes de o produto ser colocado na boca	Barra de cereal de coco
Sabor		
Gosto doce	Gosto característico adocicado, gosto de solução de sacarose	Solução de sacarose 20%
Sabor residual de fermentado	Sabor, após a ingestão, de um produto que sofreu o processo de fermentação	Cerveja <i>pilsen</i> diluída em água (1:1)
Audição		
Crocância	Intensidade do barulho ouvido na mastigação devido aos cereais estalarem ao serem mastigados	Pé-de-moleque
Textura		
Firmeza	Força requerida para o rompimento do produto entre os dentes molares	Pé-de-moleque
Mastigabilidade		
	Número de mastigadas necessárias para a deglutição de um pedaço da amostra	Sem escala definida

A tendência dos atributos avaliados (TABELAS 24 e 25) nas 11 amostras pode ser explicada pela similaridade entre as médias obtidas. O atributo mastigabilidade apresenta maiores médias, porém para esse atributo não foi estipulada uma escala pré-definida, assim o julgador ficou livre para computar seus próprios resultados para o quesito.

TABELA 24 – RESULTADOS DA ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA DOS ATRIBUTOS BRILHO, COMPACTAÇÃO, AROMA DE COCO E GOSTO DOCE PARA AS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS

Amostras	Atributos avaliados			
	Brilho	Compactação	Aroma de coco	Gosto doce
1	3,92±1,24 a	3,83±1,64 a	5,75±1,29 a	5,08±1,62 a
2	3,67±2,10 a	4,33±2,43 a	5,83±2,04 a	5,33±2,50 a
3	4,42±2,43 a	4,83±2,37 a	5,75±1,91 a	4,92±2,57 a
4	4,17±1,64 a	4,25±2,42 a	5,92±1,78 a	5,75±2,09 a
5	5,17±2,83 a	4,67±2,53 a	5,17±1,90 a	5,83±2,40 a
6	4,83±2,20 a	5,25±2,63 a	4,42±2,11 a	5,17±1,95 a
7	4,42±2,11 a	5,50±2,35 a	6,25±1,91 a	5,75±1,66 a
8	5,42±2,31 a	5,08±2,50 a	5,67±1,77 a	5,58±2,60 a
9	5,58±2,27 a	4,58±2,11 a	5,17±2,17 a	5,50±2,15 a
10	5,42±2,27 a	4,83±2,52 a	5,33±1,82 a	6,25±2,10 a
11*	5,67±2,19 a	4,92±2,11 a	5,42±1,62 a	5,75±1,86 a

NOTA: Valores apresentados como Média aritmética ± Desvio padrão (n = 12). * Amostra controle. Letras iguais na mesma coluna não indicam diferença estatística (p<0,05).

TABELA 25 – RESULTADOS DA ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA DOS ATRIBUTOS SABOR RESIDUAL, CROCÂNCIA, FIRMEZA E MASTIGABILIDADE PARA AS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS

Amostras	Atributos avaliados			
	Sabor residual	Crocância	Firmeza	Mastigabilidade
1	3,92±1,97 a	4,25±2,26 a	5,58±1,50 a	16,33±3,42 a
2	4,67±2,01 a	4,33±1,67 a	5,42±2,15 a	15,67±5,01 a
3	4,50±2,02 a	4,67±2,15 a	5,17±2,04 a	14,50±2,88 a
4	3,83±2,25 a	4,58±2,10 a	4,58±2,78 a	14,92±4,29 a
5	5,17±1,90 a	4,83±2,52 a	4,67±2,06 a	15,83±4,15 a
6	4,92±1,97 a	4,67±1,77 a	4,92±1,68 a	16,08±4,08 a
7	4,75±1,42 a	5,42±1,24 a	5,42±1,83 a	16,50±3,85 a
8	4,17±1,75 a	4,17±2,72 a	4,50±1,93 a	16,58±4,48 a
9	5,50±2,11 a	5,17±2,17 a	4,25±2,38 a	15,75±4,18 a
10	4,75±2,38 a	5,58±2,15 a	5,08±1,78 a	16,17±3,27 a
11*	3,58±1,88 a	4,92±1,68 a	5,08±1,56 a	16,17±4,84 a

NOTA: Valores apresentados como Média aritmética ± Desvio padrão (n = 12). * Amostra controle. Letras iguais na mesma coluna não indicam diferença estatística (p<0,05).

Os resultados da ADQ (TABELAS 24 e 25) para os atributos brilho, compactação, aroma de coco, gosto doce, sabor residual, crocância, firmeza e mastigabilidade não apresentaram diferença estatística (p<0,05), isso pode ser atribuído a homogeneidade dos provadores e também, ao alto desvio padrão, o que pode ser justificado pelo fato dos atributos sensoriais analisados serem respostas individuais dos provadores. Assim, essa similaridade entre as médias da amostra controle e as demais possibilita a adição do trigo fermentado com *Agaricus*

brasiliensis e minerais em barras de cereais, sem modificar suas qualidades sensoriais.

Outros pesquisadores também relataram atributos que não apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) em ADQ realizadas. Dutcosky et al. (2006) não observaram diferenças quanto ao aroma de banana em barras de cereais prebióticas. Gutkoski et al. (2007) não verificaram diferenças na textura (crocância e firmeza) de barras de cereais à base de aveia com alto teor de fibra alimentar. Brito et al. (2004) obtiveram similaridade entre as médias dos atributos textura, aroma e uniformidade (no presente estudo entendida como compactação) para barras de cereais caseiras.

Na TABELA 26 estão apresentadas as equações e os coeficientes de determinação (R^2) dos modelos de regressão cúbico especial completo, obtidos para os atributos avaliados na ADQ. Essas equações foram geradas a partir das superfícies de respostas. As equações, assim como as superfícies de resposta, foram estimadas ignorando-se os efeitos não significativos. Os coeficientes de determinação variam de 66,85% a 99,90%, logo se pode dizer que a maioria desses modelos foi apropriada, porém devido ao fato das amostras não apresentarem diferenças significativas nos atributos avaliados ($p < 0,05$) não foi possível ajustar um modelo preditivo.

De acordo com a TABELA 26, o modelo de brilho apresentou $R^2 < 70\%$, assim, pode-se dizer que esse modelo possui média relevância para explicar as variações nos resultados e, portanto, não pode ser utilizado para fins preditivos (RAVIKUMAR et al., 2006). Entretanto, mesmo que os modelos não foram altamente significativos há a possibilidade de se analisar a tendência da resposta na região estudada (BARROS NETO, SCARMINIO e BRUNS, 2002). Logo, tal modelo pode ser utilizado para fins de verificação de tendência dos resultados quando aveia, gergelim e trigo fermentado com *A. brasiliensis* e minerais são utilizados para desenvolver barras de cereais, uma vez que R^2 foi maior que 60%.

Coeficientes de determinação devem ter a magnitude de, pelo menos, 70% para serem considerados bons, ao passo que coeficientes (R^2) acima de 90% são considerados excelentes (BARROS NETO, SCARMINIO e BRUNS, 2002).

Por meio da análise apenas dos coeficientes de primeira ordem das equações da TABELA 26, percebe-se que a aveia em flocos foi a variável de maior influência (maiores coeficientes) para os atributos de firmeza e mastigabilidade,

enquanto a variável gergelim foi a variável de maior influência para os atributos aroma de coco, gosto doce e sabor residual de fermentado (nesse caso as maiores notas foram atribuídas ao sabor mais agradável, ou seja, menos sabor residual de fermentado), e a variável trigo fermentado com *A. brasiliensis* e minerais apresentou os maiores coeficientes, isto é, essa variável teve maior influência nos atributos brilho, compactação e crocância.

TABELA 26 – EQUAÇÕES E COEFICIENTES DE DETERMINAÇÃO DAS MODELAGENS OBTIDAS PELA METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTAS PARA OS DESCRITORES DA ADQ DAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS

Atributo	Equação*	R ² (%)
Brilho	$R = 4,01AV + 3,76GE + 4,51TR + 1,86AV*GE + 4,36AV*TR + 3,53GE*TR + 1,49AV*GE*TR$	66,85
Compactação	$R = 3,81AV + 4,31GE + 4,81TR + 0,59AV*GE + 1,26AV*TR + 2,59GE*TR + 14,12AV*GE*TR$	96,82
Aroma de coco	$R = 5,71AV + 5,80GE + 5,51TR + 0,35AV*GE - 2,48AV*TR - 5,65GE*TR + 28,07AV*GE*TR$	88,40
Gosto doce	$R = 5,10AV + 5,35GE + 4,93TR + 2,23AV*GE + 3,40AV*GE + 2,33GE*TR + 3,26AV*GE*TR$	96,19
Sabor residual de fermentado	$R = 3,93AV + 4,68GE + 4,51TR - 1,78AV*GE + 3,89AV*TR + 1,39GE*TR + 3,00AV*GE*TR$	98,87
Crocância	$R = 4,25AV + 4,33GE + 4,66TR + 1,15AV*GE + 1,49AV*TR + 0,65GE*TR + 16,41AV*GE*TR$	99,90
Firmeza	$R = 5,53AV + 5,37GE + 5,12TR - 3,88AV*GE - 3,03AV*TR - 1,70GE*TR + 15,71AV*GE*TR$	71,75
Mastigabilidade	$R = 16,34AV + 15,68GE + 14,51TR - 4,29AV*GE + 1,71AV*TR + 4,04GE*TR + 25,06AV*GE*TR$	99,36

NOTA: *R = resposta. AV = aveia; GE = gergelim; TR = trigo fermentado com *A. brasiliensis* e minerais

O Diagrama Triangular da ADQ para o atributo brilho é apresentado na FIGURA 25. Pode-se verificar, por meio da observação da região experimental do diagrama, que as barras de cereais dos pontos centrais do delineamento apresentaram maior tendência ao brilho. Quando as porcentagens das três variáveis estudadas se aproximavam dos níveis máximos, no diagrama correspondem ao valor 1,00 e são as regiões experimentais correspondentes à cor verde (índices <

3,00), as barras de cereais eram mais opacas. Similarmente ao observado nesse diagrama triangular da ADQ para o atributo brilho das barras de cereais, Dutcosky et al. (2006) verificaram que a utilização de goma acácia em barras de cereais contribuiu para a opacidade das amostras.

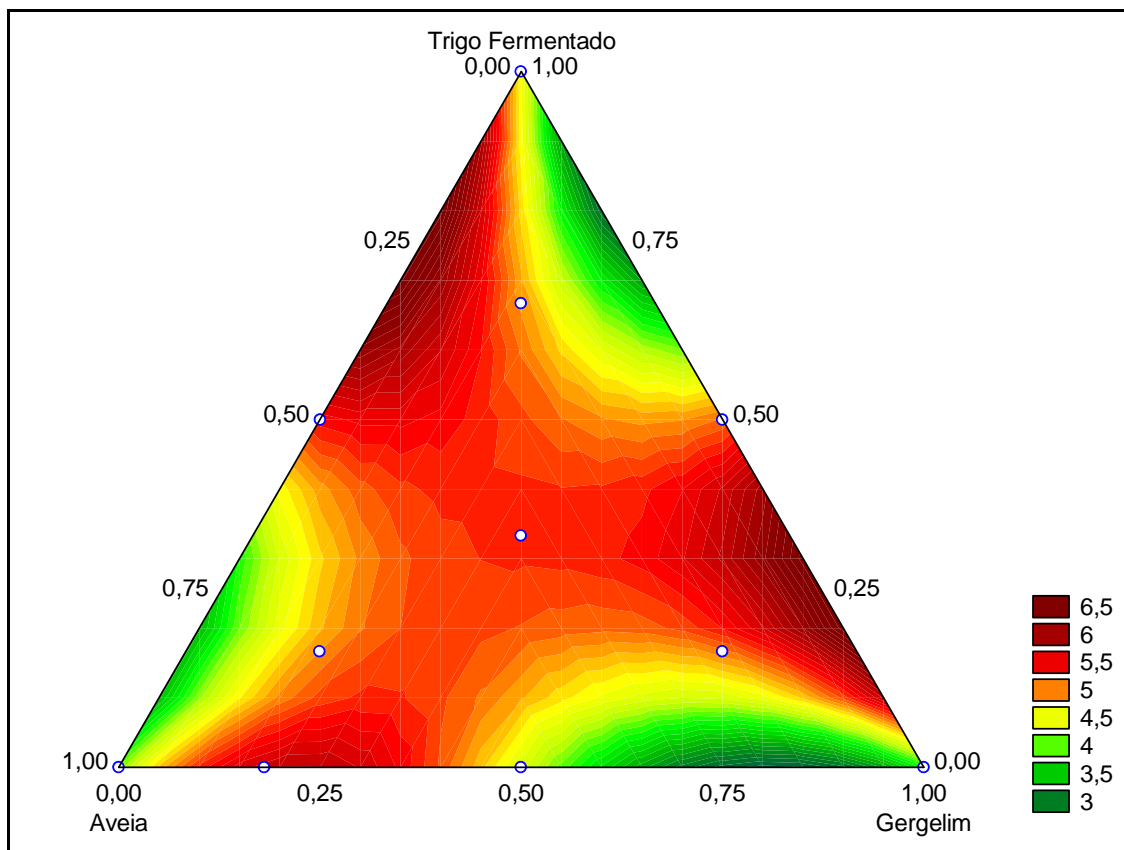


FIGURA 25 - DIAGRAMA TRIANGULAR DA ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA PARA O ATRIBUTO BRILHO DAS BARRAS DE CEREIS ELABORADAS PARA MISTURAS CONTENDO AVEIA, GERGELIM E TRIGO FERMENTADO COM *Agaricus brasiliensis* E MINERAIS

Em relação à compactação das barras de cereais (FIGURA 26), ou seja, a melhor distribuição dos ingredientes, não propiciando o esfarelamento do produto ou cereais não aderidos, a análise do diagrama triangular apresenta uma tendência de melhor compactação na interação de aveia, gergelim e trigo fermentado. Isso é verificado também pela equação do modelo para esse atributo, pois o maior índice numérico é justamente o do coeficiente da interação dessas três variáveis.

Sampaio, Ferreira e Canniatii-Brazaca (2009), elaboraram barras de cereais fortificadas com ferro e obtiveram uma média de 5,77 para o atributo compactação dos produtos, ou seja, os julgadores avaliaram que os espaços vazios, ou a falta de compactação, não influenciou significativamente ($p < 0,05$) na aceitação do produto. A

região experimental da FIGURA 26, que se aproxima do valor encontrado pelas referidas pesquisadoras, encontra-se nos pontos centrais do delineamento utilizado. Logo, pela análise da região experimental correspondente às maiores notas para a compactação, a mistura das três variáveis favoreceu a compactação das barras de cereais, propiciando uma melhor compactação dos produtos.

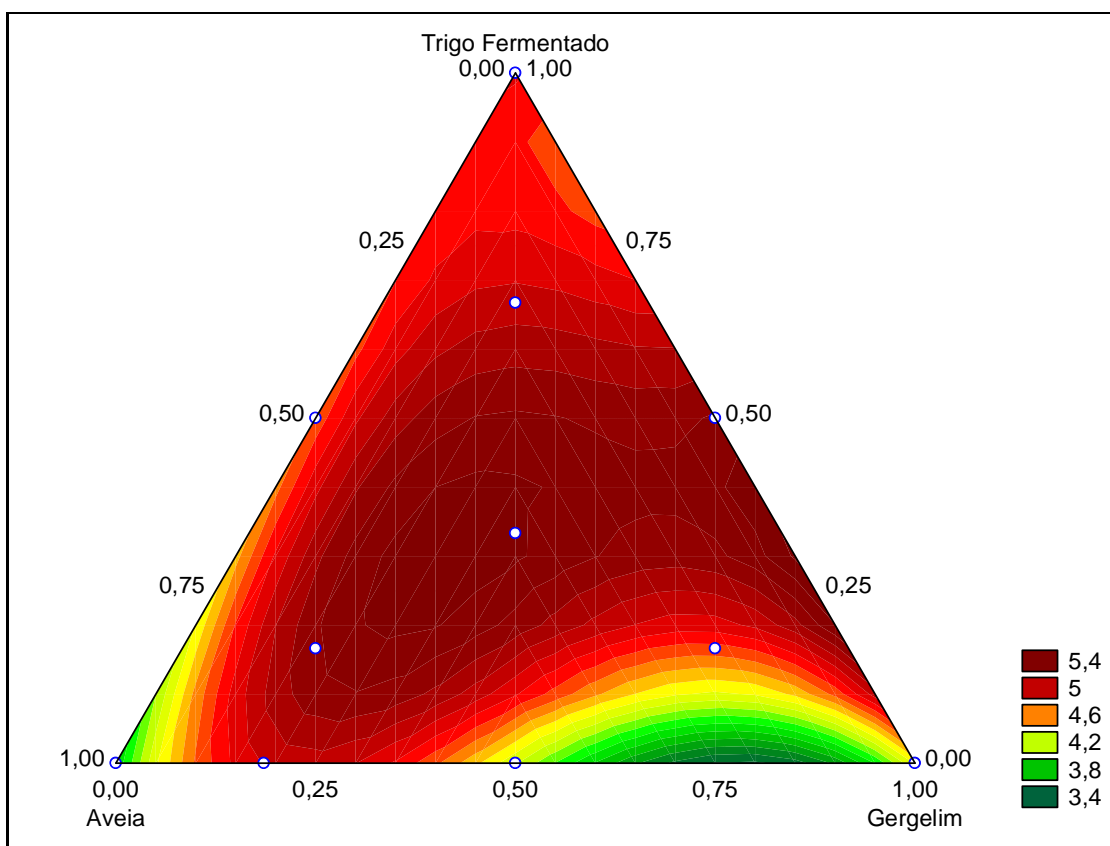


FIGURA 26 - DIAGRAMA TRIANGULAR DA ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA PARA O ATRIBUTO COMPACTAÇÃO DAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS PARA MISTURAS CONTENDO AVEIA, GERGELIM E TRIGO FERMENTADO COM *Agaricus brasiliensis* E MINERAIS

Silva et al. (2009 a) elaboraram barras de cereais com resíduo industrial de maracujá e verificaram que à medida que a quantidade de resíduo aumentou nas formulações, os valores das forças de corte e ruptura apresentaram uma tendência ao aumento. Isso foi explicado pela possível compactação das barras, ocasionada pela presença das fibras do resíduo. Desse modo, a compactação é um atributo importante pela aparência geral das barras de cereais e também na mastigabilidade desses produtos.

Na FIGURA 27 observa-se o Diagrama Triangular da ADQ para o atributo aroma de coco, a região ótima para esse atributo situa-se próxima aos pontos 0,50

de aveia e de trigo fermentado e tendendo ao ponto mínimo de gergelim. Assim, pela observação dessa figura verifica-se que a interação das três variáveis (AV, GE e TR) contribuiu para realçar o aroma de coco (região experimental no centro do diagrama, correspondente as maiores notas), isso também foi verificado na equação do modelo para esse atributo, pois o referido coeficiente possui o maior valor (28,07). Os coeficientes negativos das interações AVxTR e GExTR indicam efeitos antagônicos. Ainda, a inclusão de gergelim promoveu o efeito de supressão desse aroma, como pode ser verificado na região experimental correspondente à cor verde (índice < 4,20).

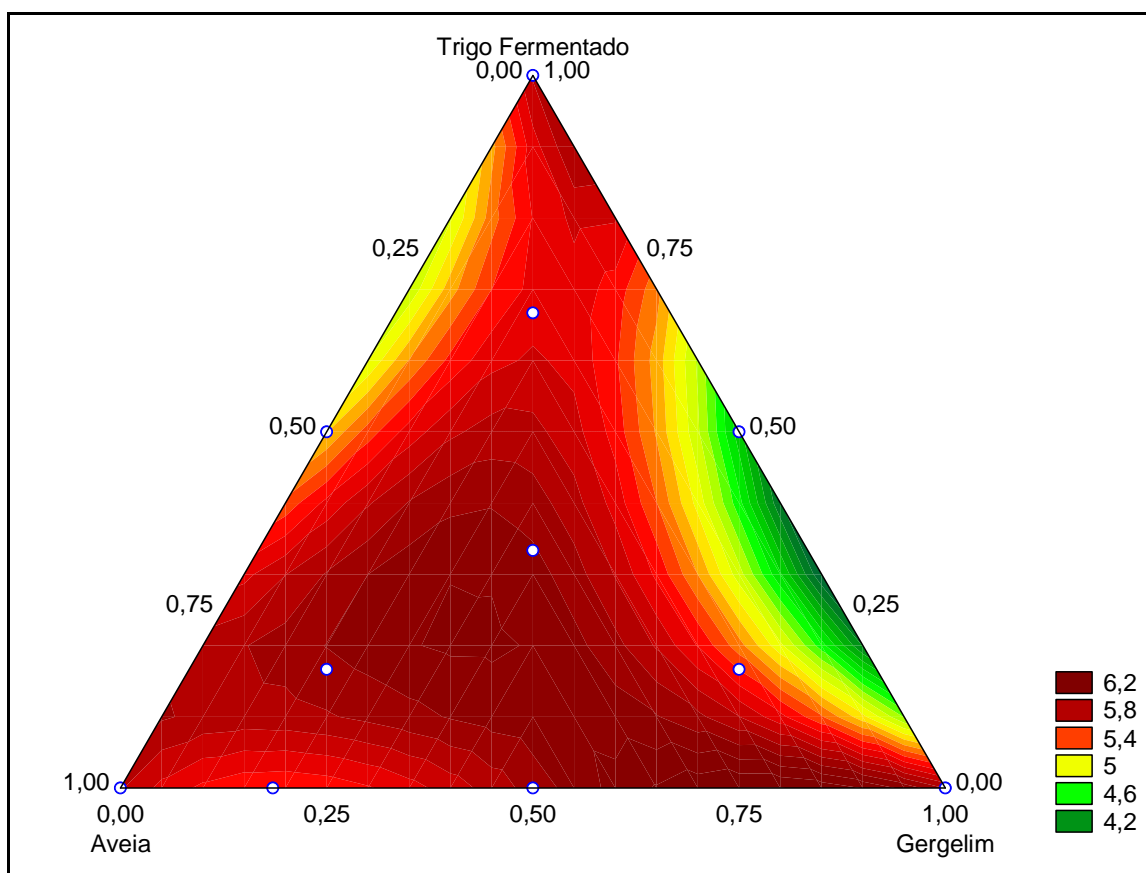


FIGURA 27 - DIAGRAMA TRIANGULAR DA ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA PARA O ATRIBUTO AROMA DE COCO DAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS PARA MISTURAS CONTENDO AVEIA, GERGELIM E TRIGO FERMENTADO COM *Agaricus brasiliensis* E MINERAIS

Na FIGURA 28 observa-se o Diagrama Triangular para o atributo gosto doce, a região experimental das maiores médias atribuídas está localizada no sentido da interação binária AVxGE para a interação binária AVxTR. Todos os

coeficientes do modelo foram positivos, ou seja, com influência aditiva em relação ao gosto doce.

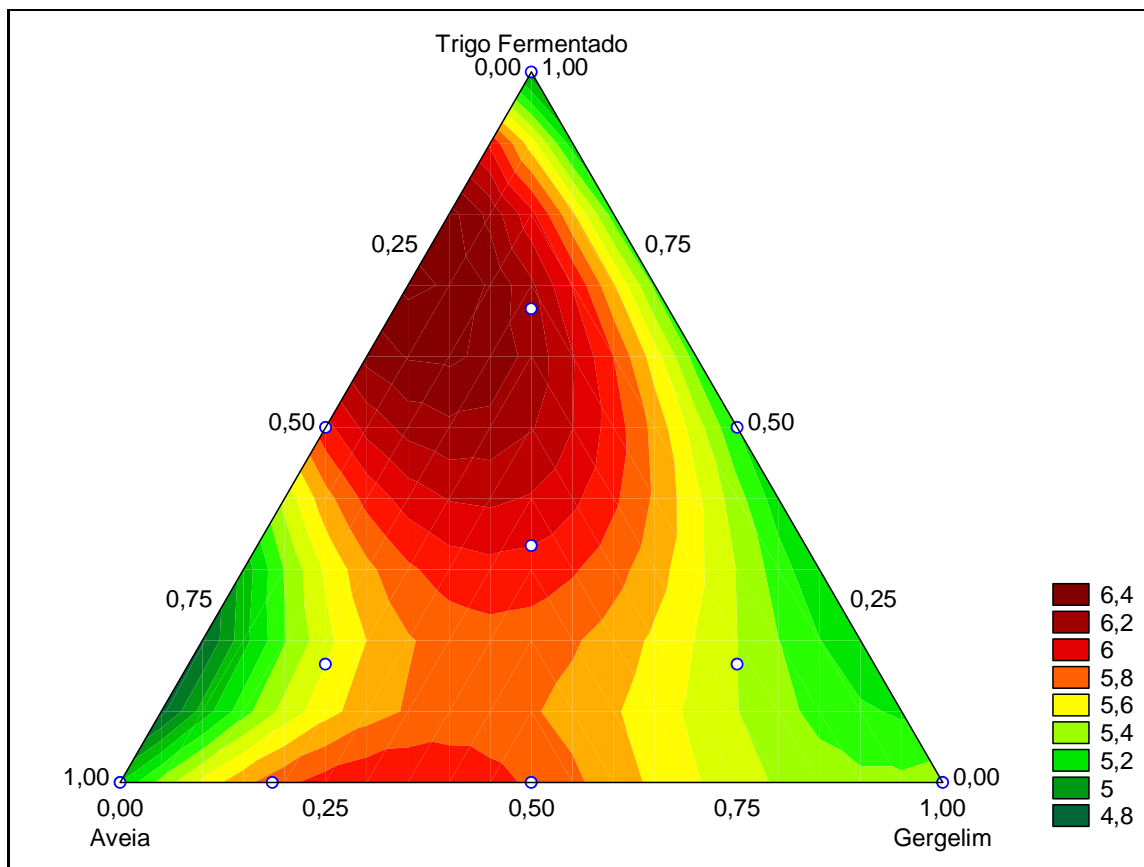


FIGURA 28 - DIAGRAMA TRIANGULAR DA ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA PARA O ATRIBUTO GOSTO DOCE DAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS PARA MISTURAS CONTENDO AVEIA, GERGELIM E TRIGO FERMENTADO COM *Agaricus brasiliensis* E MINERAIS

Dessimoni-Pinto et al. (2010) elaboraram barras de cereais com adição de amêndoa de macaúba e verificaram que a adição desse ingrediente diminuiu o gosto doce das amostras, isso foi atribuído à influência da mistura de ingredientes.

Na FIGURA 29 está o Diagrama Triangular para o atributo sabor residual de fermentado, e nessa figura as regiões experimentais com as maiores médias atribuídas localizam-se próximas as interações AVxTR e GExTR. As notas maiores indicam menor sabor residual, conforme o treinamento aplicado, ou seja, quanto maior a nota atribuída mais agradável seria esse atributo. A atribuição de notas maiores para menor sabor residual foi uma sugestão do próprio grupo de julgadores.

Ferreira et al. (2009) avaliaram sensorialmente *cookies* sem glúten com adição de farinha de sorgo, e verificaram que o sabor residual, nesse estudo o amargor, aumentava conforme aumentava o teor de farinha de sorgo.

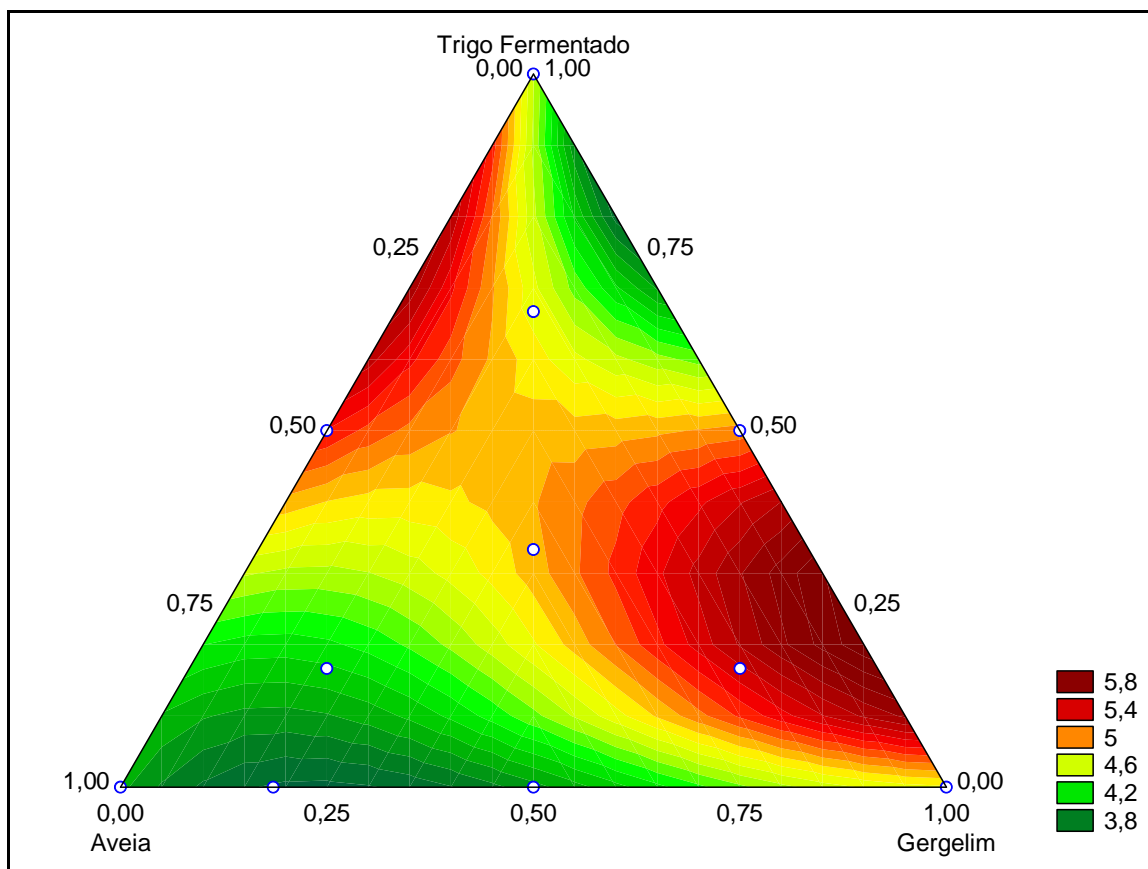


FIGURA 29 - DIAGRAMA TRIANGULAR DA ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA PARA O ATRIBUTO SABOR RESIDUAL DE FERMENTADO DAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS PARA MISTURAS CONTENDO AVEIA, GERGELIM E TRIGO FERMENTADO COM *Agaricus brasiliensis* E MINERAIS

Sudha, Vetrimani e Leelavathi (2007) elaboraram biscoitos com 40% de substituição da farinha de trigo por farelo desengordurado de arroz e que não foram bem aceitos sensorialmente com presença de sabor residual desagradável. A utilização de trigo fermentado com *A. brasiliensis* e minerais influenciou no sabor dos produtos, uma vez que esse micro-organismo gerou um produto fermentado de sabor suave e com menor conteúdo de compostos que possibilitariam sabor residual, uma vez que as amostras tiveram um bom escore de aceitação e notas altas nesse quesito.

Na FIGURA 30 pode ser observado o Diagrama Triangular da ADQ do atributo crocância. A região experimental da interação AVxTR tende a apresentar

uma maior crocância com tendência a continuar um atributo importante no sentido da interação das três variáveis AVxGExTR. O maior coeficiente da equação do modelo para esse atributo é 16,42 para a interação AVxGExTR.

De acordo com os coeficientes da equação gerada para esse modelo (TABELA 26), a variável GE exerce uma influência para a tendência de menor sabor residual de fermentado, enquanto a interação AVxGE produz um efeito antagônico, como também é verificado na TABELA 26.

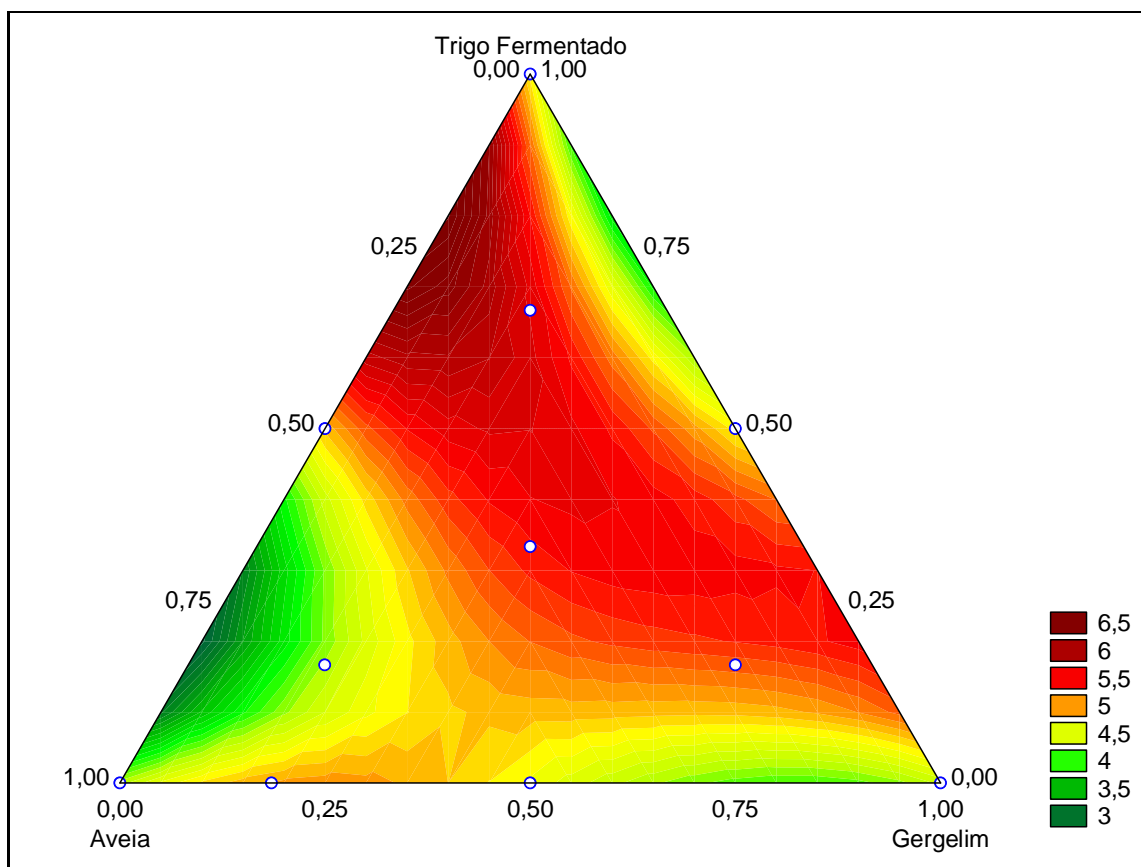


FIGURA 30 - DIAGRAMA TRIANGULAR DA ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA PARA O ATRIBUTO CROCÂNCIA DAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS PARA MISTURAS CONTENDO AVEIA, GERGELIM E TRIGO FERMENTADO COM *Agaricus brasiliensis* E MINERAIS

Em relação ao atributo firmeza das barras de cereais, representado pelo Diagrama Triangular da FIGURA 31, as regiões experimentais próximas aos vértices do triângulo (AV, GE e TR) apontam as maiores médias do atributo. O coeficiente de maior valor numérico na equação do modelo (TABELA 26) desse atributo é 15,71 para a interação AVxGExTR.

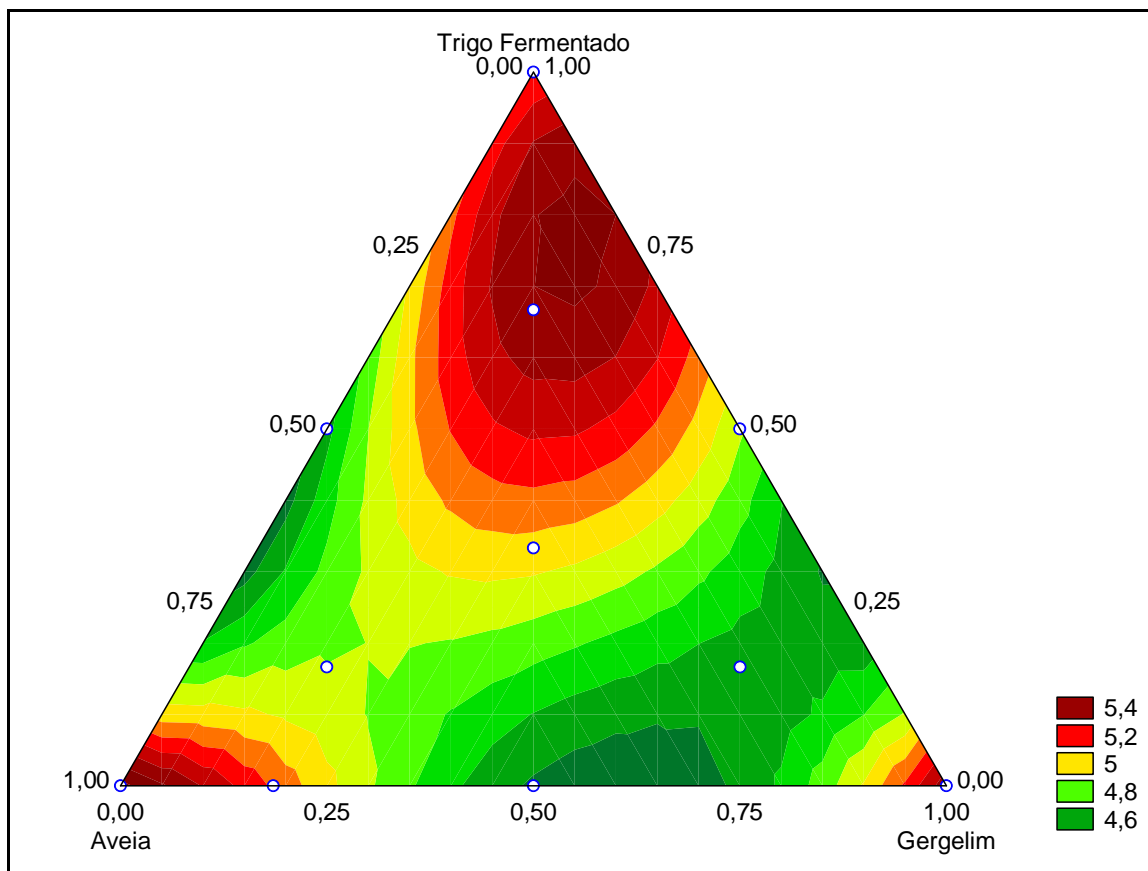


FIGURA 31 - DIAGRAMA TRIANGULAR DA ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA PARA O ATRIBUTO FIRMEZA DAS BARRAS DE CEREIS ELABORADAS PARA MISTURAS CONTENDO AVEIA, GERGELIM E TRIGO FERMENTADO COM *Agaricus brasiliensis* E MINERAIS

Na FIGURA 32 pode ser observado o Diagrama Triangular da ADQ para o atributo mastigabilidade. A região experimental de maiores médias para o atributo mastigabilidade a região da interação das três variáveis (AV, GE e TR). Isso também pode ser verificado por meio da análise dos coeficientes da equação do modelo do atributo (TABELA 26), a interação AVxGExTR possui o maior coeficiente (25,06).

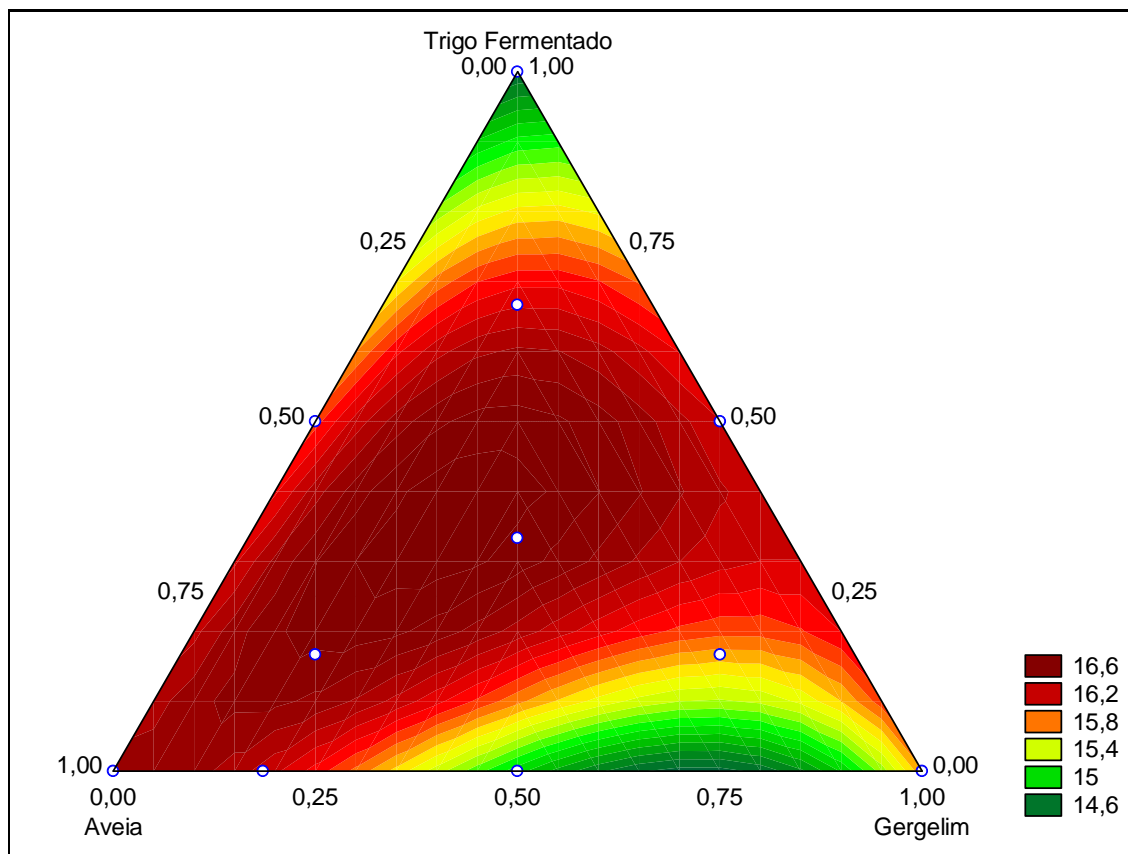


FIGURA 32 - DIAGRAMA TRIANGULAR DA ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA PARA O ATRIBUTO MASTIGABILIDADE DAS BARRAS DE CEREAIS ELABORADAS PARA MISTURAS CONTENDO AVEIA, GERGELIM E TRIGO FERMENTADO COM *Agaricus brasiliensis* E MINERAIS

Ferreira et al. (2009) avaliaram a mastigabilidade de *cookies* com farinha de sorgo e verificaram uma média de 7,0 mastigadas para total deglutição da amostra, ou seja, do produto elaborado com 58% de farinha de sorgo. Enquanto para o produto comercial, com menor teor de fibras as quais influenciaram na mastigabilidade, foi necessário menor número de mastigadas.

Segundo Bower e Whitten (2000), a mastigabilidade é um fator ser explorado em barras de cereais, uma vez que existe uma tendência dos consumidores em não adquirir barras de cereais muito duras ou crocantes, eles optam por barras mais macias.

Dutcosky et al. (2006) elaboraram barras de cereais com inulina, oligofrutose e goma acácia, ou seja, produtos com propriedades funcionais prebióticas, e obtiveram melhores respostas no atributo mastigabilidade para as barras com maiores concentrações de goma acácia, a qual tornou o produto mais mastigável e menos crocante.

5 CONCLUSÕES

Os maiores valores de biomassa ($5,82 \pm 0,03 \text{ g.L}^{-1}$) e EPS ($0,38 \pm 0,01 \text{ g.L}^{-1}$) de *Agaricus brasiliensis* obtidos por fermentação submersa com adição de zinco, cobre, selênio e cálcio foram os dos pontos centrais do DCCR, ou seja, $30,00 \text{ mg.L}^{-1}$, $5,35 \text{ mg.L}^{-1}$, $6,00 \text{ mg.L}^{-1}$ e 30 mg.L^{-1} , respectivamente. E para a fermentação no estado sólido desse trigo observou-se $1,42 \pm 0,03 \text{ mg.g}^{-1}$ de ergosterol e a biomassa estimada foi de $0,212 \pm 0,005 \text{ g.g}^{-1}$.

Os teores de β -glucanas nas barras de cereais com *A. brasiliensis* e minerais variaram de 1,30 a $3,82 \text{ g.100 g}^{-1}$. O valor médio de β -glucanas obtido para o trigo fermentado com *A. brasiliensis* foi 4,38 vezes superior ao resultado observado para o trigo *in natura*.

As barras de cereais com *A. brasiliensis* e adição de minerais apresentaram capacidade antioxidante na faixa de 29,47 a $40,17 \text{ mg CAET.100 g}^{-1}$, o trigo fermentado com *A. brasiliensis* apresentou 2,20 vezes mais atividade antioxidante que o trigo *in natura*. Similarmente, houve a mesma tendência para a quantificação de compostos fenólicos, o trigo fermentado com *A. brasiliensis* e minerais apresentou um valor 2,08 maior que o trigo *in natura*. O teor de fenólicos variou de 67,45 a $81,96 \text{ mg EAG.100 g}^{-1}$ nas barras de cereais.

O bioacúmulo de minerais na fermentação sólida do trigo com *A. brasiliensis* foi: 37,51% de Zn, 35,52% de Cu, 20,05 de Se e 38,61% de Ca em relação a fermentação controle, ou seja, aquela sem enriquecimento com minerais. Os teores de minerais das barras de cereais variaram de 1,11 a $2,99 \text{ mg.100 g}^{-1}$ para o zinco; 0,60 a $0,70 \text{ mg.100 g}^{-1}$ para o cobre; 0,05 a $0,16 \text{ mg.100 g}^{-1}$ para o selênio e 14,33 a $22,00 \text{ mg.100 g}^{-1}$ para o cálcio. O trigo fermentado com *A. brasiliensis* apresentou 52,50% a mais de Zn, 58,15% de Cu, 37,57% de Ca e 12 vezes a mais de Se que o trigo *in natura*.

Em relação à coloração das barras de cereais, quando foi adicionado o trigo fermentado, houve aumento da variação da luminosidade (ΔL^*). O maior valor de ΔL^* foi para a amostra 6 ($16,42 \pm 0,21$) e a menor variação para a amostra 1 ($0,44 \pm 0,22$). O maior índice de Δa^* foi para a amostra 1 ($0,98 \pm 0,06$) e para Δb^* as amostra 6 ($1,96 \pm 0,38$) e amostra 10 ($2,00 \pm 0,08$). A variação de coloração (ΔE) foi maior para a amostra 6 ($16,69 \pm 0,18$). A região experimental da superfície de

resposta para ΔE , cujo teor de aveia foi maior também, evidenciou que as amostras dessa região experimental do delineamento estatístico tendem a ser mais claras.

A composição centesimal das barras de cereais com adição do trigo fermentado com *A. brasiliensis* e minerais, em base seca, foi de 8,50% a 12,18% de proteínas, 5,15% a 6,72 % de lipídios 7,54% a 9,03% de fibras, 1,01% a 1,38% de resíduo mineral fixo e 61,89% a 66,82% de carboidratos. Pelo teor obtido para fibras, as barras de cereais podem ser classificadas como ricas em fibras alimentares. Em relação aos valores de açúcares totais e redutores os valores médios obtidos foram 26,27% e 13,54%, respectivamente. O valor calórico médio foi de 86,56 kcal por unidade de 25 g de barra de cereais. Para a atividade de água das barras de cereais, foram verificados valores de 0,528 a 0,579. Assim, esses produtos tendem a apresentar estabilidade microbiológica devido à baixa A_w .

Com relação às características microbiológicas, as barras de cereais estão dentro dos padrões previstos pela Legislação Brasileira vigente e apresentam-se seguras para o consumo humano.

A análise sensorial de preferência das barras de cereais obteve a nota média de 6,08 (gostei ligeiramente). E a amostra com maior teor de trigo fermentado com *A. brasiliensis* e minerais (20%) foi uma das preferidas pelos julgadores obtendo nota 7,20 (gostei moderadamente), desse modo a adição da quantidade máxima prevista neste estudo para o trigo fermentado não proporcionou efeito negativo sobre a preferência sensorial das barras de cereais.

Na análise de perfil de atributos as barras de cereais apresentaram as seguintes médias para os atributos avaliados: cor (5,86), aroma (5,43), sabor doce (5,93), sabor residual (5,88) (nesse atributo quanto maior a nota menor o sabor residual), textura (5,83) e para aparência (5,78). A amostra com 20% de trigo fermentado com *Agaricus brasiliensis* e minerais, obteve as maiores notas nos atributos cor (6,82), sabor doce (7,04), sabor residual (6,94) e textura (6,92).

Para o perfil de atitude, 70% dos julgadores que degustaram a barra de cereais 20% de trigo fermentado com *A. brasiliensis* e com adição de Zn, Cu, Se e Ca tinham o interesse de adquiri-la para consumo habitual.

Os resultados da Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) para os atributos brilho, compactação, aroma de coco, gosto doce, sabor residual, crocância, firmeza e mastigabilidade não apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$). Essa similaridade entre as médias da amostra controle e as demais possibilita a adição do trigo

fermentado com *Agaricus brasiliensis* e minerais em barras de cereais, sem modificar suas qualidades sensoriais. As superfícies de respostas geradas por modelo cúbico para os atributos avaliados na ADQ, também evidenciaram as semelhanças entre as formulações adicionadas de trigo fermentado e a amostra controle, indicando que esses atributos não são influenciados pela adição do cereal.

Assim, a adição de trigo fermentado com *Agaricus brasiliensis* e minerais em barras de cereais pode torná-las mais saudáveis, devido às propriedades nutritivas e compostos bioativos desse micro-organismo. A incorporação desse trigo fermentado às barras de cereais aumentou ainda o teor de antioxidantes, beta-glucanas, minerais e proteínas desses produtos, mantendo, ainda, as características sensoriais.

REFERÊNCIAS

ABDALLA, D. S. P.; SENA-EVANGELISTA, K. C. M. Biomarcadores de peroxidação lipídica na aterosclerose. **Revista de Nutrição**, v. 21, p. 749-756, 2008.

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Análise sensorial dos alimentos e bebidas. **NBR 12806**: Terminologia. Rio de Janeiro: ABNT, 1993

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Análise sensorial dos alimentos e bebidas. **NBR 14.140**: Teste de Análise Descritiva Quantitativa (ADQ). Rio de Janeiro: ABNT, 1998.

ALEXANDRE, J. R.; OLIVEIRA, M. L. F.; SANTOS, T. C.; CANTON, G. C.; CONCEIÇÃO, J. M.; EUTROPIO, F. J.; CRUZ, Z. M. A.; DOBBSS, L. B.; RAMOS, A. C. Zinco e ferro: de micronutrientes a contaminantes do solo. **Natureza on line**, v. 10, n. 1, p. 23-28, 2012.

ALEXOPOULOS, C.J.; MIMS, C.; BLACKWELL, M. **Introductory mcology**. 4^a ed. New York: John Wiley & Sons, 1996, 869 p.

ALEZANDRO, M. R.; GRANATO, D.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Nutritional Aspects of Second Generation Soy Foods. **Journal of Agricultura and Food Chemistry**, v. 59, 5490–5497, 2011.

ALMONDES, K. G. S.; LEAL, G. V. S.; COZZOLINO, S. M. F.; PHILIPPI, S. T.; RONDÓ, P. H. C. O papel das selenoproteínas no câncer. **Revista Associação Médica Brasileira**, v. 56, n. 4, p. 484-488, 2010.

ALVAREZ-JUBETE, L.; WIJNGAARD, H.; ARENDT, E. K.; GALLAGHER, E. Polyphenol composition and in vitro antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. **Food Chemistry**, v. 119, p. 770–778, 2010.

ANDERSON, P.; DAVIDSON, C. M.; LITTLEJOHN, D.; URE, A. M.; SHAND, C. A.; CHESHIRE, M. V. Extraction of ergosterol from peaty soils and determination by high performance liquid chromatography. **Talanta**, v. 41, n. 5, p. 711-720, 1994.

ANTOINE, J. M. R.; FUNG, L. A. H.; GRANT, C. N.; DENNIS, H. T.; LALOR, G. C. Dietary intake of minerals and trace elements in rice on the Jamaican market. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 26, n. 1-2, p. 111-121, 2012.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. HORWITZ, W. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 17 ed. Arlington: AOAC Inc., v.1 e v.2, 2000.

ARAKAKI, A. H.; VANDENBERGHE, L. P. S.; SOCCOL, V.; MASAKI, R.; ROSA FILHO, E. F.; GREGÓRIO, A.; SOCCOL, C. R. Optimization of biomass production with copper bioaccumulation by yeasts in submerged fermentation. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 54, p. 1027-1034, 2011.

ARAMOUNI, F. M.; ABU-GROUSH, M. H. Physicochemical and sensory characteristics of no-bake wheat–soy snack bars. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, p. 44–51, 2011.

ATOUI, A. K.; MANSOURI, A.; BOSKOU, G.; KEFALAS, P. Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. **Food Chemistry**, v. 89, p. 27-36, 2005.

BAÑUELOS, G. S.; STUSHNOFF, C.; WALSE, S. S.; ZUBER, T.; YANG, S. I.; PICKERING, I. J.; FREEMAN, J. L. Biofortified, selenium enriched, fruit and cladode from three *Opuntia cactus* pear cultivars grown on agricultural drainage sediment for use in nutraceutical foods. **Food Chemistry**, 2012 (in press).

BARBETTA, P. A. **Estatística Aplicada às Ciências Sociais**. Florianópolis: Ed. da UFSC, 2006. 315 p.

BARBOSA, C. E. M. Barras de Cereais: Lucre com esse mercado que cresce 20% ao ano. **Revista da padaria moderna**, ed. 68, n. 8, ano 6. 2007. Disponível em: <<http://www.padariamoderna.com.br/revista/padaria68.pdf>> Acesso em: 01 ago. 2007.

BARBOZA, L. M. V.; FREITAS, R. J. S.; WASZCZYNSKYJ, N. Desenvolvimento de produtos e análise sensorial. **Brasil Alimentos**, n. 18, p. 34-35, 2003.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. 2. ed. Campinas: Editora da UNICAMP, 2002. 401 p.

BAÚ, T. R.; CUNHA, M. A. A.; CELLA, S. M.; OLIVEIRA, A. L. J.; ANDRADE, J. T. Barra alimentícia com elevado valor proteico: formulação, caracterização e avaliação sensorial. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 4, n. 1, p. 42-51, 2010.

BECKER, T. S.; KRÜGER, R. L. Elaboração de barras de cereais com ingredientes alternativos e regionais do oeste do Paraná. **Arquivos de Ciência e Saúde UNIPAR**, v. 14, n. 3, p. 217-214, 2010.

BERNARDSHAW, S.; JOHNSON, E.; HETLAND, G. An Extract of the Mushroom *Agaricus blazei* Murill Administered Orally Protects Against Systemic Streptococcus pneumoniae Infection in Mice. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 62, n. 4, p. 393-398, 2005.

BHANJA, T.; ROUT, S.; BANERJEE, R.; BHATTACHARYYA, B. C. Studies on the performance of a new bioreactor for improving antioxidant potential of rice. **LWT – Food Science and Technology**, v. 42, p. 1459-1465, 2008.

BISINOTI, M.C.; YABE, M. J. S.; GIMENEZ, S. M. N. Avaliação da influência de metais pesados no sistema aquático da bacia hidrográfica da cidade de Londrina – PR. **Revista Analytica**, v. 8, p. 22-27, 2004.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, p. 911-917, 1959.

BONITHON-KOPP, C.; PIARD, F.; FENGER, C.; CABEZA, E.; O'MORAIN, C.; KRONBORG, O.; FAIVRE, J. European Cancer Prevention Organisation Study Group. Colorectal adenoma characteristics as predictors of recurrence. **Diseases of the Colon & Rectum**, v. 47, n. 3, p. 323-333, 2004.

BONONI, V. L. R.; CAPELARI, M.; MAZIERO, R.; TRUFEM, S. F. B. **Cultivo de cogumelos comestíveis**. São Paulo: Icone, 206p, 1995.

BORGES, J. T. S.; PIROZI, M. R.; CHAVES, J. B. P.; GERMANI, R.; PAULA, C. D. Caracterização físico-química e reológica de farinhas mistas de trigo e linhaça. **Boletim do CEPPA**, v. 29, n. 2, p. 159-172, 2011.

BOWER, J. A.; WHITTEN, R. Sensory characteristics and consumer liking for cereal bar snack foods. **Journal of Sensory Studies**, v. 15, p. 327-345, 2000.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária- ANVISA **Resolução - CNNPA nº 12, de 1978**. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 24 jul. 1978.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998. **Regulamento técnico referente à informação nutricional complementar**. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, 16 jan. 1998. p. 1-3.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária- ANVISA. **Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos**. Resolução RDC nº 12, 01/2001. Diário Oficial da União, seção 1. Brasília, DF, 03 janeiro 2001.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária- ANVISA. **Aprova o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional e ou de Saúde**. Resolução ANVS/MS Nº2 de 07 de janeiro de 2002. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Poder Executivo. Brasília, DF, 9 jan. 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. **Aprova regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Poder Executivo. 2003. (a)

BRASIL. Ministério da Saúde. **Normas para pesquisa envolvendo seres humanos** (Resolução CNS nº 196/96 e outras). 2. ed. ampliada. Brasília: Ministério da Saúde, 2003. 64 p. (b)

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) - Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005. **Aprova o regulamento técnico sobre a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais**. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, 23 Set. 2005.

BRENNAN, J. G. Texture perception and measurement. In: PIGGOTT, J. R. (Edit.). **Sensory analysis of food**. 2 ed. London: Elsevier, 1988, p.69-102.

BRITO, I. P.; CAMPOS, J. M.; SOUZA, T. F. L.; WAKIYAMA, C.; AZEREDO, G. A. Elaboração e avaliação global de barra de cereais caseira. **Boletim do CEPPA**, v. 22, n. 1, p. 35-50, 2004.

BURITI, F. C. A.; CARDARELLI, H. R.; SAAD, S. M. I. Textura instrumental e avaliação sensorial de queijo fresco cremoso simbiótico: implicações da adição de *Lactobacillus paracasei* e inulina. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 1, p. 75-84, 2008.

CACERES, E.; GARCIA, M.L.; SELGAS, M.D. Design of a new cooked meat sausage enriched with calcium. **Meat Science**, v. 73, n. 2, p. 368-377, 2006.

CAMELINI, C. M.; MARASCHIN, M.; MENDONÇA, M. M.; ZUCCO, C.; FERREIRA, A. G.; TAVARES, L. A. Structural characterization of β -glucans of *Agaricus brasiliensis* in different stages of fruiting body maturity and their use in nutraceutical products. **Biotechnology Letters**, v. 27, p. 1295-1299, 2005 (b).

CAMELINI, C. M.; MENDONÇA, M. M.; DIAS, P. F.; MARASCHIN, M. Beta-glucanas do cogumelo, *Agaricus subrufescens*, extração, análise do rendimento, estrutura química e análise biológica. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 35, p. 36-46, 2005 (a).

CARNEIRO, A. A. J.; GIESE, E. C.; BARBOSA, A. M.; GOMES, E.; SILVA, R. *Agaricus blazei* as a Substrate for the Production of β -1,3-Glucanase by *Trichoderma harzianum* Rifai. **Food Technology and Biotechnology**, v. 49, n. 3, p. 341–346, 2011.

CARVALHO, J. C.; OISHI, B. O.; BRAND, D.; RODRIGUEZ-LEON, J. A.; PANDEY, A.; SOCCOL, C. R. Relation between growth, respirometric analysis and biopigments

production from *Monascus* by solid substrate fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 29, p. 262-269, 2006.

CARVALHO, M. G.; COSTA, J. M. C.; SOUZA, V. A. B.; MAIA, G. A. Avaliação dos parâmetros físicos e nutricionais de amêndoas de chichá, sapucaia e castanhado-gurguéia. **Revista Ciência Agronômica**, v. 39, n. 4, p. 517-523, 2008.

CARVALHO, S. A.; COELHO, J. V.; TAKAHASHI, J. A. Screening Filamentous Tropical Fungi for their Nutritional Potential as Sources of Crude Proteins, Lipids and Minerals. **Food Science and Technology International**, v.16, n. 4, p. 315-320, 2010.

CASTRO, A. M. PEREIRA JUNIOR, N. Produção, propriedades e aplicação de celulasas na hidrólise de resíduos agroindustriais. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 181-188, 2010.

CHANG, H. L.; CHAO, G. R.; CHEN, C. C.; MAU, J. L. Non-volatile taste components of *Agaricus blazei*, *Antrodia camphorata* and *Cordyceps militaris* mycelia. **Food Chemistry**, v. 74, p. 203-207, 2001.

CHANG, S. T.; BUSWELL, J. A. Mushroom nutraceuticals. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 12, p. 473–476, 1996.

CHANG, S. T.; MILES, P. G. Mushroom biology – a new discipline. **Mycologist**, v. 6, p. 64-65, 1992.

CHAVES, J. B. P. **Controle de qualidade para indústrias de alimentos (princípios gerais)**. Viçosa: UFV - Universidade Federal de Viçosa, 1980, 94 p.

CHO, K. C.; WHITE, P. J. Enzymatic analysis of beta-glucan content in different oat genotypes. **Cereal Chemistry**, v. 70, n. 5, p. 539-542, 1993.

CHUN, S. S.; VATTEM, D. A.; LIN, Y. T.; SHETTY, K. Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 809-816, 2005.

COREY, M. E.; BEELMAN, R. B.; SEETHARMAN, K. Potential for nutritional enrichment of whole-wheat bread with portabella mushroom powder (*Agaricus*

bisporus (J. Lge) Imbach, Agaricomyceteidae). **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 11, n. 2, p. 157-166, 2009.

CORNELL, J. A. Discussion. **Technometrics**, v. 26, n. 2, p.119-122, 1984.

CORNELL, J. A. **Experiments with mixture-designs, models and the analysis of mixture data**. 3. ed. New York: Jwiley. 2002, 656 p.

CORREIA, R. T. P.; MCCUE, P.; MAGALHÃES, M. M. A.; MACEDO, G.R.; SHETTY, K. Production of phenolic antioxidants by the solid-statebioconversion of pineapple waste mixed with soy flour using *Rhizopus oligosporus*. **Process Biochemistry**, v. 39, p. 2167-2172, 2004.

CRUZ, A. P. G.; MATTIETTO, R.; DIB TAXI, C.; CABRAL, L. M. C.; DONANGELO, C. M.; MATTA, V. M. Effect of microfiltration on bioactive components and antioxidant activity of açai (*Euterpe oleracea* Mart.). **Desalination and Water Treatment**, v. 27, p. 97-102, 2011.

DALLA SANTA, H. S.; RUBEL, R.; DESTÉFANIS, V. F. M.; LEIFA, F.; TARARTHUCH; A. L.; LIMA FILHO CAVALCANTE, J. H.; FIGUEIREDO, B. C.; DALLA SANTA, O. R.; RAYMUNDO, M. S.; HABU, S.; SOCCOL, C. R. Kidney Function Indices in Mice after Long Intake of *Agaricus brasiliensis* Mycelia (= *Agaricus blazei*, *Agaricus subrufescens*) Produced by Solid State Cultivation. **Journal of Biological Sciences**, v. 9, n. 1, p. 21-28, 2009.

DALLA SANTA, H. S.; RUBEL, R.; FERNANDES, L. C.; BONATTO, S. J. R.; BELLO, S. R.; MONTEIRO, M. C.; KHALIL, N. M.; DALLA SANTA, O. R.; SOCCOL, C. R.; GERN, J. C.; SANTOS, C. A. M. *Agaricus brasiliensis*-enriched functional product promotes in mice increase in HDL levels and immunomodulate to Th1 CD4+T subsets. *A. brasiliensis* functional product and biological benefits. **Current Trends in Biotechnology and Pharmacy**, v. 4, n. 4, p. 957-970, 2010.

DALLA SANTA, H. S.; RUBEL, R.; VITOLA, F. M. D.; RODRIGUEZ-LEON, J. A.; DALLA SANTA, O. R.; ALVARÉZ, D. C.; MACEDO, R. E. F.; CARVALHO, J. C.; SOCCOL, C. R. Growth parameters of *Agaricus brasiliensis* mycelium ond wheat grains in solid-state fermentation. **Biotechnology**, v. 3, p. 144-153, 2012.

DE MAN, J.M. **Principles of food chemistry**. 3 rd. New York: Springer, 1999, 520 p.

DE PENNA, E. W. Métodos sensoriales y sus aplicaciones. In: ALMEIDA, T. C. A.; HOUGH, G.; DAMÁSIO, M. H.; SILVA, M. A. A. P. (Eds). **Avanços em análise sensorial**. São Paulo: Varela, 1999, p. 133-22.

DEGÁSPARI, C. H.; BLINDER, E. W.; MOTTIN, F. Perfil Nutricional do consumidor de barras de cereais. **Visão Acadêmica**, v. 9, n. 1, p. 49-61, 2008.

DEL BIANCHI, V. L.; MORAES, I. O.; CAPALBO, D. M. F. Fermentação em estado sólido. In: SCHIMEDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotecnologia industrial**: Engenharia Bioquímica. São Paulo: Edgard Blücher Ltda., v. 2, p. 247-276, 2001.

DELLA LUCIA, S. M.; MINIM, V. P. R.; CARNEIRO, J. D. S. Análise Sensorial de Alimentos. In: MINIM, V. P. R. **Análise Sensorial**: estudos com consumidores. Viçosa: Editora UFV, 2006, p. 13-49.

DERNOVICS, M.; STEFANKA, Z.; FODOR, P. Improving selenium extraction by sequentive enzymatic process for Se-speciation of selenium-enriched *Agaricus bisporus*. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 372, p. 473–480, 2002.

DESSIMONI-PINTO, N. A. V.; SILVA, V. M.; BATISTA, A. G.; VIEIRA, G.; SOUZA, C. R.; DUMONT, P. V.; SANTOS, G. K. M. Características físico-químicas da amêndoa de macaúba e seu aproveitamento na elaboração de barras de cereais. **Alimentos e Nutrição**, v. 21, n. 1, p. 77-84, 2010.

DI PIERO, R. M.; PASCHOLATI, S. F. Efeitos dos cogumelos *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei* na interação entre plantas de tomate e *Xanthomonas vesicatoria*. **Summa Phytopathologica**, v.30, n.1, p.57-62, 2004.

DIAS, E. S.; ABE, C. SCHWAN, R. F. Truths and myths about the mushroom *Agaricus blazei*. **Scientia Agricola**, v. 61, n. 5, p. 545-549, 2004.

DIJKGRAAF, G. J. P.; HUIJUAN, L.; BUSSEY, H. Cell-wall β -glucans of *Saccharomyces cerevisiae* In: VANDAMME E. J.; DE BAETS, S.; STEINBÜCHEL, A.

Biopolymers: Polysaccharides II – Polysaccharides from eukaryotes. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH, v. 6, 2002, p. 179-213.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos.** 3 ed. Curitiba: Champagnat, 2011. 426 p.

DUTCOSKY, S. D.; GROSSMANN, M. V. E.; SILVA, R. S. S. F.; WELSCH, A. K. Combined sensory optimization of a prebiotic cereal product using multicomponent mixture experiments. **Food Chemistry**, v. 98, p. 630–638, 2006.

ELLIS, D. R.; SALT, D. E. Plants, selenium and human health. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 6, p. 273–279. 2003.

ERENO, D. Pequenos e poderosos. **Pesquisa FAPESP**, n. 100, p. 138-141, 2004.

ESCOBAR, A. B.; ESTÉVEZ, A. M. A.; TEPPER, A. L.; AGUAYO, M. R. Características nutricionales de barras de cereals y maní. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 48, n. 2, p. 156-159, 1998.

ESTRADA, A. E. R.; LEE, H.; BEELMAN, R. B.; JIMENEZ-GASCO, M. M.; ROYSE, D. J. Enhancement of the antioxidants ergothioneine and selenium in *Pleurotus eryngii* var. *eryngii* basidiomata through cultural practices. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 25, p. 1597-1607, 2009.

FARAONI, A. S. RAMOS, A. M.; GUEDES, D. B.; OLIVEIRA, A. N.; LIMA, T. H. S. F.; SOUSA, P. H. M. Desenvolvimento de um suco misto de manga, goiaba e acerola utilizando delineamento de misturas. **Ciência Rural**, v. 42, n. 5, p. 911-917, 2012.

FARINAZZI-MACHADO, F. V. et al. Use of cereal bars with quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) to reduce risk factors related to cardiovascular diseases. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 32, n. 2, p. 239-244, 2012.

FERNANDES, M. B. A; HABU, S.; LIMA, M. A.; SOCCOL, V. T.; SOCCOL, C. R. Influence of drying methods over in vitro antitumoral effects of exopolysaccharides produced by *Agaricus blazei* LPB 03 on submerged fermentation. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 34, p.253-261, 2011.

FERREIRA, V. L. P.; ALMEIDA, T. C. A.; PETTINELLI, M. L. C.; SILVA, M. A. A. P.; CHAVES, J. B. P.; BARBOSA, E. M. M. **Análise sensorial**: testes discriminativos e afetivos. Campinas: SBCTA, Manual: Série Qualidade. 2000. 127 p.

FERREIRA, K. S.; GOMES, J. C.; BELLATO, C. R.; JORDÃO, C. P. Concentrações de selênio em alimentos consumidos no Brasil. **Revista Panamericana de Salud Publica**, v. 11, n. 3, p. 172-177, 2002.

FERREIRA, S. M. R.; LUPARELLI, P. C.; SCHIEFERDECKER, E. M.; VILVELA, R. M. Cookies sem glúten a partir da farinha de sorgo. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 59, n. 4, p. 433-440, 2009.

FRAKER, P.J.; KING, L. E.; LAAKKO, T.; VOLLMER, T. L. The dynamic link between the integrity of the immune system and zinc status. **Journal of Nutrition**, v. 130, p. 1399-1406, 2000.

FREITAS, D. C. Barras de cereais elaboradas com proteína de soja e gérmen de trigo, características físico-químicas e textura durante armazenamento. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 55, n. 3, p. 299-304, 2005.

FREITAS, D. G. C.; MORETTI, R. H. Caracterização e avaliação sensorial de barra de cereais funcional de alto teor protéico e vitamínico. **Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 318-324, 2006.

FUJITA, A. H.; FIGUEROA, M. O. R. Composição centesimal e teor de β -glucanas em cereais e derivados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 2, p. 116-120, 2003.

FURLANI, R. P. Z.; GODOY, H. T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 154-157, 2007.

GALVÃO, J. G.; GUERREIRO, M. C.; SOUZA, J. A.; COURA, S. M. C. Uso do fungo *Fusarium oxysporum* como indicador de ametrina, através da medida de biomassa, pela quantificação de ergosterol. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, n. 4, p. 840-845, 2003.

GAO, H.; GU, W. Optimization of polysaccharide and ergosterol production from *Agaricus brasiliensis* by fermentation process. **Biochemical Engineering Journal**, v. 33, p. 202–210, 2007.

GODOY, R. C. B.; WASZCZYNSKYJ, N.; SANTANA, F. A.; SILVA, S. O.; OLIVEIRA, L. A.; LEDO, C. A. S.; SOUSA NETO, M. A. Varieties resistant to black Sigatoka with the potential for jam processing. **Acta Horticulturae**, 2012 (in press).

GONG, P.; GUAN, X.; WITTER, E. A rapid method to extract ergosterol from soil by physical disruption. **Applied Soil Ecology**, v.17, p. 285-289, 2001.

GUTAROWSKA, B.; ZAKOWSKA, Z. Elaboration and application of mathematical model for estimation of mould contamination of some building materials based on ergosterol content determination. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 49, p. 299-305, 2002.

GUTKOSKI, L. C., BONAMIGO, J. M. A., TEIXEIRA, D. M. F., PEDÓ, I. Desenvolvimento de barras de cereais à base de aveia com alto teor de fibra alimentar. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 355-363, 2007.

GUTKOSKI, L. C.; TROMBETTA, C. Avaliação dos teores de fibra alimentar e de beta-glicanas em cultivares de aveia (*Avena sativa* L). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 3, p. 387-390, 1999.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. Oxford: Claredon Press, 1989, 543 p.

HARE, L. B. Mixture design applied to food formulation. **Food Technology**, v. 28, n. 3, p. 50-62, 1974.

HEANEY, R. P. Calcium Intake and Disease Prevention. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 50, p. 685-693, 2006.

HELM, C. V.; CORADIN, J. H.; KESTRING, D. R. Avaliação da Composição Química dos Cogumelos Comestíveis *Agaricus bisporus*, *Agaricus brasiliensis*, *Agaricus bisporus portobello*, *Lentinula edodes* e *Pleorotus ostreatus*. **Embrapa: Comunicado Técnico** Nº 235, 2009.

HIGAKI, M.; EGUCHI, F.; WATANABE, Y. A stable culturing method and pharmacological effects of the *Agaricus blazei*. **Nippon Yakurigaku Zasshi**, v. 110, p. 98-103, Suppl. 1., 1997.

HONG, G.; WEN-YING, G. Quantitative determination of ergosterol in *Agaricus brasiliensis* by triple-wavelength spectrophotometry. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, v. 35, n. 4, p. 586-588, 2007.

HSU, C.; LIAO, Y.; LIN, S.; HWANG, K.; CHOU, P. The mushroom *Agaricus blazei* Murill in combination with Metformin and Gliclazide improves insulin resistance in type 2 Diabetes: a randomized, double-blinded, and placebo-controlled clinical trial. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 13, n. 1, p. 97–102, 2007.

IAL - INSTITUTO ADOLF LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 4 ed., ed. digital. São Paulo, 2008.

ISLABÃO, N. **Vitaminas seu metabolismo no homem e nos animais domésticos**. São Paulo: Livraria Nobel, 1978, 201p.

ITOH, H.; ITO, H.; AMANO, H. Inhibitory action of a (10/6)-b-D-glucan/protein complex (FIII-2-b) isolated from *Agaricus blazei* Murill ('Himematsutake') on Meth A fibrosarcomabearing mice and its antitumor mechanism. **Japanese Journal of Pharmacology**, v. 66, p. 265–271, 1994.

JASINGHE, V. J.; PERERA, C. O.; SABLANI, S. S. Kinetics of the conversion of ergosterol in edible mushrooms. **Journal of Food Engineering**, v. 79, p. 864–869, 2007.

JELLINEK, G. **Sensory evaluation of food: theory and practice**. England: Ellis Horwood, 1985, 429 p.

JONG, C. S. Fungal cell wall glycans In: VANDAMME, E. J.; DE BAETS, S.; STEINBÜCHEL, A. **Biopolymers: Polysaccharides II – Polysaccharides from eukaryotes**. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH., v. 6. p. 159-178. 2002.

KADUKOVÁ, J.; VIRCÍKOVÁ, E. Comparison of differences between copper bioaccumulation and biosorption. **Environmental International**, v. 31, p. 232-277, 2005.

KATZ, F. "How Nutritious?" Meets "How Convenient?" **Food Technology**, v. 53, n. 10, p. 44-50, 1999.

KER, Y. B.; CHEN, K. C.; CHYAU, C. C.; CHEN, C. C.; GUO, J. H.; HSIEH, C.L.; WANG, H.E.; PENG, C. C.; CHANG, C. H.; PENG, R. Y. Antioxidant capability of polysaccharides fractionated from submerge-cultured *Agaricus blazei* Mycelia. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 7052-7058, 2005.

KERRIGAN, R. W. *Agaricus subrufescens*, a cultivated edible and medicinal mushroom. and its synonyms. **Mycologia**, v. 97, n. 1, p.12-24, 2005.

KIM, Y.; KIM, K.; CHOI, H.; LEE, D. Anti-diabetic activity of β -glucans and their enzymatically hydrolyzed oligosaccharides from *Agaricus blazei*. **Biotechnology Letters**, v. 27, p. 483–487, 2005.

KIRK, P. M.; CANNON, P. F.; MINTER, J. C.; STALPERS, J. A. **Dictionary of the Fungi**. 10th ed. Wallingford: CAB International, 2008, 84 p.

LAKHANPAL, T. N.; RANA, M. Medicinal and nutraceutical genetic resources of mushrooms. **Plant Genetic Resources**, v. 3, n. 2, p. 288–303, 2005.

LARGETEAU, M. L.; LLARENA-HERNÁNDES, R. C.; REGNAULT-ROGER, C., SAVOIE, J. The medicinal *Agaricus* mushroom cultivated in Brazil: biology, cultivation and non-medicinal valorization. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 92, n. 5, p. 897-907, 2011.

LAROCHE, C.; MICHAUD, P. New developments and prospective for β (1, 3) glucans. **Recent Patents on Biotechnology**, v. 1, p. 59–73, 2007.

LARRAURI, J. A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v. 45, p. 1390-1393, 1997.

LAWLESS, H.T.; HEYMANN, H. **Sensory evaluation of food: principles and practices**. New York: Springer, 1999, 848 p.

LEE, C.; PARK, J.; KIM, B.; KIM, S.; RO, H. Determination of Mineral Components in the Cultivation Substrates of Edible Mushrooms and Their Uptake into Fruiting Bodies. **Mycobiology**, v. 37, n. 2, p. 109-113, 2009.

LEE, I.; HUNG, Y. H.; CHOU, C. Solid-state fermentation with fungi to enhance the antioxidative activity, total phenolic and anthocyanin contents of black bean. **International Journal Food Microbiology**, v. 121, p. 150-156, 2008.

LEE, M. K.; LEE, S. Y.; LEE, H. Y. Bistage control of pH for improving exopolysaccharide production from mycelia of *Ganoderma lucidum* in an air-lift fermentor. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 88, n. 6, p. 646-650, 1999.

LEE, S. J.; SAIKI, I.; HAYAKAWA, Y.; NUNOME, S.; YAMADA, H.; KIM, S. H. Antimetastatic and immunomodulating properties of a new herbal prescription, Bojungbangam-tang. **International Immunopharmacology**, v. 3, p. 147-157, 2003.

LEIFA, F.; SOCCOL, A. T.; GERMANO, S. L.; PANDEY, A.; RAU, R.; PEDROSO, A. L.; SOCCOL, C. R. Production of polysaccharides by culinary-medicinal mushroom *Agaricus brasiliensis* Wasser Lpb 03 (Agaricomycetideae) in submerged fermentation and antitumor effect. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 5, n. 1, p. 17-23, 2003.

LEORO, M. G. V.; CLERICI, M. T. P. S.; CHANG, Y. K.; STEEL, C. J. Evaluation of the in vitro glycemic index of a fiber-rich extruded breakfast cereal produced with organic passion fruit fiber and corn flour. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 4, p. 964-968, 2010.

LI, P.; SHEN, C. **Method for propagating fungi using solid state fermentation**. United State, Sun, 6558943. 2003. Disponível em: <<http://www.freepatentsonline.com/6558943.html>> Acesso em: 20 jun. 2012.

LIANG, C.; SYU, J.; MAU, J. Antioxidant properties of solid-state fermented adlay and rice by *Phellinus linteus*. **Food Chemistry**, v. 116, p. 841-845, 2009.

LIMA, J. C. R.; FREITAS, J. B.; CZEDER, L. C.; FERNANDES, D. C.; NAVES, M. M. V. Qualidade microbiológica, aceitabilidade e valor nutricional de barras de cereais formuladas com polpa e amêndoa de baru. **Boletim do CEPPA**, v. 28, n. 2, p. 331-343, 2010.

LIMA, M. A. **Potencial biotecnológico de basidiomicetos isolados no estado do Paraná**. Dissertação (Mestrado) 102 p. Programa de Pós-Graduação em Processos Biotecnológicos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba – PR. 2009.

LIMA, M. M.; NUNES, M. L.; AQUINO, L. C. L.; MUJICA, P. I. C.; CASTRO, A. A. Desenvolvimento e caracterização Físico-Química, Microbiológica e Sensorial de barras de cereais adicionadas de Quitosana e Ômega-3. **Scientia Plena**, v. 8, n. 3, p. 1-9, 2012.

LIN, C.; WEI, Y.; CHOU, C. Enhanced antioxidative activity of soybean koji prepared with various filamentous fungi. **Food Microbiology**, v. 23, p. 628-633, 2006.

LIN, J.; YANG, S. Mycelium and polysaccharide production of *Agaricus blazei* Murrill by submerged fermentation. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 39, p. 98-108, 2006.

LIU, G.; WANG, X. Optimization of critical medium components using response surface methodology for biomass and extracellular polysaccharide production by *Agaricus blazei*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 74, p. 78–83, 2007.

LIYANA-PATHIRANA, C. M.; SHAHIDI, F. Antioxidant and free radical scavenging activities of whole wheat and milling fractions. **Food Chemistry**, v. 101, p. 1151–1157, 2007.

LOBATO, L. P.; BENASSI, M. T.; GROSSMANN, M. V. E. Adição de inulina em géis de amido e leite utilizando planejamento experimental de misturas. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 15, n. 2, p. 134-140, 2012.

LOBO, A. S.; TRAMONTE, V. L. C. Efeitos da suplementação e da fortificação de alimentos sobre a biodisponibilidade de minerais. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 1, p. 107-113, 2004.

LOPES, A.; SABAINI, N. M.; GOMES-DA-COSTA, S. M. Produção de biomassa de Cogumelo-do-sol e de shitake em resíduos agroindustriais. **Boletim do CEPPA**, v. 27, n. 2, p. 183-190, 2009.

LYONS, G.; STANGOULIS, J. GRAHAM, R. High-selenium wheat: biofortification for better health. **Nutrition Research Reviews**, v. 16, p. 45–60, 2003.

MACEDO, E. M. C.; AMORIM, M. A.; SILVA, A. C. S.; CASTRO, C. M. M. B. Efeitos da deficiência de cobre, zinco e magnésio sobre o sistema imune de crianças com desnutrição grave. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 28, n. 3, p. 329-336, 2010.

MACDOUGALL, D. B. **Colour in food: improving quality**. Woodhead Publ., Cambridge. 2002. 388 p.

MAFRA, D.; COZZOLINO, S. M. F. Importância do zinco na nutrição humana. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 1, p. 79-87, 2004.

MAGGIAN, R. C.; RIBEIRO, R. G.; FELIPE, F. I. Análise da rentabilidade da cultura de trigo na região de Guarapuava, Paraná (Resumo). In: 48º Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, Campo Grande. **Anais 48º Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural**, 2010.

MANDELBAUM-SCHIMID, J. Vitamin and mineral deficiencies harm one-third of the World population, says new report. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 82, n. 3, p. 230-231, 2004.

MANTOVANI, M. S. BELLINI, M. F.; ANGELI, J. P. F.; OLIVEIRA, R. J.; SILVA, A. F.; RIBEIRO, L. R. β -Glucans in promoting health: Prevention against mutation and cancer. **Mutation Research**, v. 658, n. 3, p. 154-161, 2008.

MANZI, P.; PIZZOFERRATO, L. β -glucans in edible mushrooms. **Food Chemistry**, v. 68 n. 3, p. 315-318, 2000.

MANZONI, M.; ROLLINI, M. S.; BENEDETTI, A. **Copper-enriched biomass, method for the preparation thereof and pro-biotic, cosmetic, dietary and nutraceutic products comprising the same**. Patente: WO/2010/007586, 2010.

MAPOLELO, M.; TORTO, N.; PRIOR, B. Evaluation of yeast strains as possible agents for trace enrichment of metal ions in aquatic environments. **Talanta**, v. 65, n. 4, p. 930-937, 2005.

MARTINS, F. F.; MENDES, A. B.; CRUZ, W. M. S.; BOAVENTURA, G. T. Metabolismo do cálcio na fenilcetonúria. **Revista Nutrição**. v. 22, n. 3, p. 419-428, 2009.

MARTINS, P. S.; BRUNIALTI, M. K.; MARTOS, L. S. W.; MACHADO, F. R.; ASSUNÇÃO, M. S.; BLECHER, S.; SALOMÃO, R. Expression of cell surface receptors and oxidative metabolism modulation in the clinical continuum of sepsis. **Critical Care**, v. 12, n. 25, 2008.

MATUSIEWICZ, H. Atom trapping and in situ preconcentration techniques for flame atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta**, Part B, 52, p. 1711–1736, 1997.

MAZZA, G. (Ed.) **Functional Foods** - biochemical and processing aspects. Technomic Publishing Co., Inc., Lancaster, 1998, 460 p.

McCLURE, S. J. How minerals may influence the development and expression of immunity to endoparasites in livestock. **Parasite Immunology**, v. 30, p. 89–100, 2008.

McDONALD, P; EDWARDS, R. A.; GREENHALGH, J. F. D. **Animal Nutrition**, 4 ed. Harlow, England, Longman Scientific and Technical, 1988.

MCDOWEE, L. R. **Minerals in animal and human nutrition**. 2 ed. Netherlands: Elsevier Science, 2003, 644 p.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. Boca Raton, CRC Press, 394 p. 1991.

MINOZZO, M. G.; WASZCZYNSKYJ, N.; BOSCOLO, W. R. Production of creamy granulated catfish (*Pterodoras granulosus*) pate and its microbiological, sensory and physico-chemical characterization. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 13, p. 182-188, 2010.

MIRA, G. S.; GRAF, H.; CÂNDIDO, L. M. B. Visão retrospectiva em fibras alimentares com ênfase em beta-glucanas no tratamento do diabetes. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 1, p. 11-20, 2009.

MITCHELL, D. A.; BEROVIC, M.; NOPHARATANA, M.; KRIEGER, N. The bioreactor Step of SSF: A Complex Interaction of Phenomena. In: MITCHELL, D. A.; KRIEGER, N.; BEROVIC, M. **Solid State Fermentation Bioreactors**. Ed. Springer, p. 13-32, Heidelberg, 2006, 447 p.

MIZUNO, T. The extraction and development of antitumor active-polysaccharides from medicinal mushrooms in Japan. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 1, p. 9-30, 1999.

MIZUNO, T.; HAGIWARA, T.; NAKAMURA, T.; ITO, H.; SHIMURA, K.; SUMIYA, T.; ASAKURA, A. Antitumor activity and some properties of water-soluble polysaccharides from "Himematsutake", the fruiting body of *Agaricus blazei* Murill. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 54, p. 2889-2896, 1990.

MOCCHEGIANI, E; MUZZIOLI, M. Therapeutic application of zinc in human immunodeficiency virus against opportunistic infections. **Journal of Nutrition**, v. 130, p. 1424-1431, 2000.

MONTGOMERY, H. J.; MONREAL, C. M.; YOUNG, J. C.; SEIFERT, K. A. Determination of soil fungal biomass from soil ergosterol analyses. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 32, p. 1207-1217, 2000.

MORAES, J. O.; PERTUZATTI, P. B.; CORRÊA, F. V.; SALAS-MELLADO, M. L. M. Study of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei* Reade) in the process of food products. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, supl., p. 18-22, 2007.

MOURÃO, F.; UMEO, S. H.; TAKEMURA, O. S.; LINDE, G. A.; COLAUTO, N. B. Antioxidant activity of *Agaricus brasiliensis* basidiocarps on different maturation phases. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 42, n. 1, p. 197-202, 2011.

NELSON, N. A photometric adaptation of Somogyi method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemists**, v. 153, n. 1, p. 375-384, 1944.

NITSCHKE, J.; MODICK, H.; BUSCH, E.; VON REKOWSKI, R. W.; ALTENBACH, H.; MÖLLEKEN, H. A new colorimetric method to quantify β -1,3-1,6-glucans in comparison with total β -1,3-glucans in edible mushrooms. **Food Chemistry**, v. 127, p. 791–796, 2011.

NOGUEIRA, C.; BORGES, F.; RAMALHO, A. Micronutrientes com ação antioxidante em neonatos. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 28, n. 4, p. 381-386, 2010.

NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7. ed. Washington, D. C.: National Academy Press, 2001, 381 p.

OHNO, N.; FURUKAWA, M.; MIURA, N. N.; ADACHI, Y.; MOTOI, M.; YADOMAE, T. Antitumor β -Glucan from the Cultured Fruit Body of *Agaricus blazei*. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 24, n. 7, p. 820-828, 2001.

OLIVEIRA, E. C. M.; OLIVEIRA, E. R.; LIMA, L. C. O.; VILLAS BOAS, E. V. B. Composição centesimal do Cogumelo do Sol (*Agaricus blazei*). **Revista da Universidade de Alfenas**, v. 5, p. 169-172, 1999.

OLIVEIRA, M. S.; DORS, G. C.; SOUZA-SOARES, L. A.; BADIALE-FURLONG, E. Atividade antioxidante e antifúngica de extratos vegetais. **Alimentos e Nutrição**, v. 18, n. 3, p. 267-275, 2007.

OLSON, J. D. The role of selenium and vitamin E in mastitis and reproduction of dairy cattle. **Cattle Practice**, v. 3, p. 47-49, 1995.

ORTOLANI, E. L. Macro e microelementos. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, v. 1, p. 750-761, 2006.

OSAKI, Y.; KATO, T.; YAMAMOTO, K. OKUBO; MIYAZAKI, T. Antimutagenic and bactericidal substances in the fruit body of a basidiomycete *Agaricus blazei* Jun-17. **Yakugaku Zasshi**, v. 114, n. 5, p. 342- 350, 1994.

PALAZZOLO, G. Cereal bars: they're not just for breakfast anymore. **Cereal Foods World**, v. 48, n. 2, p. 70-72, 2003.

PANDEY, A. Solid-state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 13, p. 81-84, 2003.

PAPASPYRIDIS, L.; ALIGIANNIS, N.; CHRISTAKOPOULOS, P.; SKALTSOUNIS, A.; FOKIALAKIS, N. Production of bioactive metabolites with pharmaceutical and nutraceutical interest by submerged fermentation of *Pleurotus ostreatus* in a batch stirred tank bioreactor. **Procedia Food Science**, v. 1, p. 1746-1752, 2011. (a)

PAPASPYRIDIS, L. M.; KATAPODIS, P.; GONOU-ZAGOU, Z.; KAPSANAKI-GOTSI, E.; CHRISTAKOPOULOS, P. Growth and biomass production with enhanced b-glucan and dietary fibre contents of *Ganoderma australe* ATHUM. 4345 in a batch-stirred tank bioreactor. **Engineering in Life Sciences**, v. 11, n. 1, p. 65–74, 2011. (b)

PARK, Y. K.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, S. M.; AGUIAR, C. L. Determinação da concentração de beta-glucano em cogumelo *Agaricus blazei* Murill por método enzimático. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 3, p. 312-316, 2003.

PASA, C. Relação reprodução animal e os minerais. **Revista Biodiversidade**, v. 9, n. 1, 2010.

PECHOVA, A.; PAVLATA, L.; LOKAJOVA, E. Zinc supplementation and somatic cell count in Milk of dairy cows. **Acta Veterinaria Brno**, v. 75, n. 3, p. 355-361, 2006.

PEDRÃO, M. R.; CORÓ, F. A. G. Análise sensorial e sua importância na pesquisa de alimentos. **Revista Unopar Científica - Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 1, n. 1, p. 85-89, 1999.

PEHANICH, M. No holds barred. **Prepared foods**, v. 172, n. 3, p. 79-80, 2003.

PELIZER, L. H.; DANESI, E. D. G.; RANGEL, C. O.; SASSANO, C. E. N.; SATO, S.; MORAES, I. O. Influence of inoculum age and concentration in *Spirulina platensis* cultivation. **Journal of Food Engineering**, v. 56, n. 3, p.371-375, 2003.

PEREIRA, G. A. P.; GENARO, P. S.; PINHEIRO, M. M.; SZEJNFELD, V. L.; MARTINI, L. A. Cálcio dietético – estratégias para otimizar o consumo. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 49, n. 2, p. 164-180, 2009.

PIGGOT, J. R. **Sensory Analysis of Foods**. London: Elsevier, 1984, 389 p.

PIMENTEL, C. V. M. B.; FRANCKI, V. M.; GOLLUCKE, A. P. B. **Alimentos Funcionais**: introdução às primeiras substâncias bioativas em alimentos. São Paulo: Editora Varela, 2005, 95 p.

PONTES, T. E.; COSTA, T. F.; MARUM, A. B. R. F.; BRASIL, A. L.; TADDEI, J. A. A. Orientação nutricional de crianças e adolescentes e os novos padrões de consumo: propagandas, embalagens e rótulos. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 27, n. 1, p. 99-105, 2009.

PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. **Analytical Biochemistry**, v. 269, p. 337–341, 1999.

QUEIROZ, M. I.; TREPTOW, R. O. **Análise Sensorial para a Avaliação da Qualidade dos Alimentos**. Rio Grande: Editora da FURG, 2006, 268 p.

QUEIROZ, V. A. V.; CARNEIRO, H. L.; DELIZA, R.; RODRIGUES, J. A. S.; VASCONCELLOS, J. H.; TARDIN, F. D.; QUEIROZ, L. R. Genótipos de sorgo para produção de barra de cereais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 2, p. 287-293, 2012.

RABINOVICH, M.; FIGLAS, D.; DELMASTRO, S.; CURVETTO, N. Copper- and Zinc-Enriched Mycelium of *Agaricus blazei* Murrill: Bioaccumulation and Bioavailability. **Journal of Medicinal Food**, v. 10, n. 1, p. 175–183, 2007.

RAVIKUMAR, K.; RAMALINGAM, S.; KRISHNAN, S.; BALU, K. Application of response surface methodology to optimize the process variables for reactive red and acid brown dye removal using a novel adsorbent. **Dyes and Pigments**, v. 70, p. 18-26, 2006.

RAMAKRISHNA, C.; REDDY, Y.; REDDY, S. Council of Scientific & Industrial Research. **Cereal bar formulation and process therefor**. A23L 1/164. EUA WO 2005/063047 A1. 31 dez 2003, World Intellectual Property Organization. 14 jul. 2005.

REGULY, J. C. **Biotecnologia dos processos fermentativos**: fundamentos, matérias primas agrícolas, produtos e processos. Pelotas: UFPel, v.1, 1996, 221 p.

REHMAN, H.; REHANA, I.; YAWAR, W. Determination of inorganic elements in milk powder using wavelength dispersive X-ray fluorescence spectrometer. **International Journal of Dairy Technology**, v. 65, n.1, p. 98-103, 2012.

RINK, L.; KIRCHNER, H. Zinc-Altered immune function and cytokine production. **Journal of Nutrition**, v. 130, p. 1407-1411, 2000.

ROBERTO, B. S. **Resíduo de goiaba: metabolismo em ratos e aplicabilidade em barras de cereais**. 163 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS, 2012.

ROCHA, D. A.; ABREU, C. M. P.; CORRÊA, A. D.; SANTOS, C. D.; FONSECA, E. W. N. Análise comparativa de nutrientes funcionais em morangos de diferentes cultivares da região de Lavras-MG. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 4, p. 1124-1128, 2008.

ROCHA, G. A.; TRINDADE, M. A.; NETTO, F. M.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Microcapsules of a Casein Hydrolysate: Production, Characterization, and Application in Protein Bars. **Food Science and Technology International**, v. 15, n. 4, p. 407-413, 2009.

ROCKENBACH, I. I.; SILVA, G. L.; RODRIGUES, E. GONZAGA, L. V. FETT, R. Atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva das variedades Regente e Pinot Noir (*Vitis vinifera*). **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 2, p. 158-163 2007.

ROCKENBACH, I. I.; SILVA, G. L.; RODRIGUES, E.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannat e Ancelota. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 28, Supl., p. 238-244, 2008.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos**: uma estratégia sequencial de planejamentos. Campinas: Casa do Pão Editora, 2005, 326 p.

RODRIGUES, M. L.; FIORESEL, F.; JÚLIO, T. S. K.; LIRA, R. K. Controle de qualidade e análise centesimal de uma barra de cereal, comercializada na cidade de Cascavel, PR. **Cascavel**, v. 4, n. 1, p. 36-44, 2011.

ROEPCKE, C. B. S.; VANDENBERGHE, L. P. S.; SOCCOL, C. R. Optimized production of *Pichia guilliermondii* biomass with zinc accumulation by fermentation. **Animal Feed Science and Technology**, v. 163, p. 33–42, 2011.

ROGINSKY, V.; LISSI, E. A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. **Food Chemistry**, v. 92, p. 235-254, 2005.

ROSENTHAL, A. J. Relation between instrumental and sensory measures of food texture. In: ROSENTHAL, A. J. (Edit.) **Food texture**: measurement and perception. Gaithersburg: Aspen Publishers, 1999, p. 1-17.

ROSLI, W. I. W.; AISHAH, M. S. *Pleurotus sajor-caju* (PSC) Improves Nutrient Contents and Maintains Sensory Properties of Carbohydrate-based Products. **International Journal of Medical and Biological Sciences**, v. 6, p. 156-158, 2012.

ROSS, G. D.; VĚTVIČKA, V.; YAN, J.; XIA Y.; VĚTVIČKOVÁ, J. Therapeutic intervention with complement and β -glucan in cancer (Review). **Immunopharmacology**, v. 42, p. 61 – 74, 1999.

ROSSINI, K.; ANZANELLO, M. J.; FOGLIATTO, F. S. Seleção de atributos em avaliações sensoriais descritivas. **Produção**. ahead of print, pp. 0-0. Epub May 29, 2012.

RUBEL, R.; DALLA SANTA, H. S.; FERNANDES, L. C.; BONATTO, S. J. R.; BELLO, S.; FIGUEIREDO, B. C.; LIMA FILHO, J. C.; SANTOS, C. A. M.; SOCCOL, C. R. Hypolipidemic and antioxidant properties of *Ganoderma lucidum* (Leyss:Fr) Karst used as a dietary supplement. **World Journal of Microbiology & Technology**, v. 27, p. 1083-1089, 2011.

RUTZ, J. K.; VOSS, G. B.; MACHADO, M. R. G.; RODRIGUES, R. S. Elaboração de alimento em barra à base de torta residual da extração do óleo de amendoim por prensagem. **Boletim do CEPPA**, v. 29, n. 2, p. 173-180, 2011.

RUZICKA, S.; EDGERTON, D.; NORMAN, M.; HILL, T. The Utility of ergosterol as a bioindicator of fungi in temperate soils. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 32, n. 7, p. 989-1005, 2000.

RYLAND, D.; VAISEY-GENSER, M.; ARNTFIELD, S. D.; MALCOLMSON, L. J. Development of a nutritious acceptable snack bar using micronized flaked lentils. **Food Research International**, v. 43, p. 642–649, 2010.

SAASTAMOINEN, M.; PLAAMI, S.; KUMPULAINEN, J. Beta-glucan and phytic acid content of oats cultivated in Finland. **Acta Agriculturae Scandinavica**, v. 42, n. 1, p. 6-11, 1992.

SALAMA, M. F. Preparation and evaluation of pasta prepared from semolina flour and oyster mushroom Mycelia powder. **Egyptian Journal of Food Science**, v. 35, p. 59-70, 2007.

SAMPAIO, C. R. P. FERREIRA, S. M. R.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Perfil sensorial e aceitabilidade de barras de cereais fortificadas com ferro. **Alimentos e Nutrição**, v. 20, n. 1, p. 95-106, 2009.

SANDULA, J.; KOGAN, G.; KACURAKOVA, M.; MACHOVA, E. Microbial (1-3)-beta-D-glucans, their preparation, physico-chemical characterization and immunomodulatory activity. **Carbohydrate Polymers**, v. 38, n. 3, p. 247-253, 1999.

SANTOS, J. F. **Avaliação das propriedades nutricionais de barras de cereais elaboradas com farinha de banana verde**. Dissertação. (Mestrado). 70 p. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo – SP. 2010.

SANTOS, C. T.; BONOMO, R. F.; FONTAN, R. C. I.; BONOMO, P.; VELOSO, C. M.; FONTAN, G. C. R. Characterization and sensorial evaluation of cereal bars with jackfruit. **Acta Scientiarum - Technology**, v. 33, n. 1, p. 81-85, 2011.

SCOTT, W. J. Water relations of food spoilage microorganisms. **Advances in Food Research**, v. 7, n. 9, p. 83-127, 1957.

SECEX. SECRETARIA EXECUTIVA DE COMÉRCIO EXTERIOR. **Circular Secex**, n. 59 de 18/12/2002, fls. 09,10,11,12.

SEITZ, L. M.; MOHR, H. E.; BURROUGHS, R.; SAUER, D. B. Ergosterol as an indicator of fungal invasion in grains. **Cereal Chemistry**, v. 54, n. 6, p. 1207-1217, 1977.

SELBMANN, L.; CROGNALÉ, S.; PETRUCCIOLI, M. Exopolysaccharide production from *Sclerotium gluconicum* NRRL 3006 and *Botryosphaeria rhodina* DABAC-P82 on raw and hydrolysed starchy materials. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 34, n. 1, p. 51-55, 2002.

SHIBATA, C. K. R.; DEMIATE, I. M. Cultivo e análise da composição química do Cogumelo do Sol (*Agaricus blazei* Murril). **Publicatio UEPG Ciências Biológicas Saúde**, v. 9, n. 2, p. 21-32, 2003.

SHONG, Z.; JIA, L.; XU, F.; MENG, F.; DENG, P.; FAN, K.; LIU, X. Characteristics of Se-Enriched Mycelia by *Stropharia rugoso-annulata* and its Antioxidant Activities in vivo. **Biological Trace Element Research**, v. 131, n. 1, p. 81-89, 2009.

SHU, C.; LIN, K. Effects of aeration rate on the production of ergosterol and blazeispirol A by *Agaricus blazei* in batch cultures. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 42, p. 212–216, 2011.

SHU, C.; LIN, K.; WEN, B. Effects of culture temperature on the production of bioactive polysaccharides by *Agaricus blazei* in batch cultures. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 82, p. 831–836, 2007.

SILVA, A. C.; JORGE, N. Antioxidant properties of *lentinus edodes* and *Agaricus blazei* extracts. **Journal of Food Quality**, v. 34, p. 386–394, 2011.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TNIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. Editora Livraria Varela, São Paulo, Brasil, 2010, 624p.

SILVA, I. Q.; OLIVEIRA, B. C. F.; LOPES, A. S.; PENA, R. S. Obtenção de barra de cereais adicionada do resíduo industrial de maracujá. **Alimentos e Nutrição**, v. 20, n. 2 p. 321-329, 2009 (a).

SILVA, A. C. OLIVEIRA, M. C.; DEL RÉ, P. V.; JORGE, N. Utilização de extrato de cogumelo como antioxidante natural em óleo vegetal. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 4, p. 1103-1108, 2009 (b).

SILVA, S. M. S.; MURA, J. D. P. **Tratado de Alimentação, Nutrição e Dietoterapia**. São Paulo: Roca, 2007, p.77-112.

SILVEIRA, C. M.; FURLONG, E. B. Caracterização de compostos nitrogenados presentes em farelos fermentados em estado sólido. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 4, p. 805-811, 2007.

SILVEIRA, J.; LEITE, J. P. Technique for optimization of ceramic bodies using mixture design. **Cerâmica**, v. 56, n. 340, p. 347-354, 2010.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. **American Journal Enology Viticulture**, v. 16, p. 144-158, 1965.

SIROHI, D. P.; SIEVERT, B.; DESJARDINS, J. J.; GEOFFROY, G. **Societe des produits Nestle S.A. Cereal bar**. A23L 1/164. FR EP 1 151 676 A1, 1 mai 2000, European Patent Office, 7 nov. 2001.

SMIDERLE, F. R.; RUTHES, A. C.; ARKEL, J. V.; CHANPUT, W.; IACOMINI, M.; WICHES, H. J.; GRIENSVEN, L. J. L. D. Polysaccharides from *Agaricus bisporus* and *Agaricus brasiliensis* show similarities in their structures and their immunomodulatory effects on human monocytic THP-1 cells. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 11, n. 58, p. 1-10, 2011.

SOARES, A. A.; SOUZA, C. G. M.; DANIEL, F. M. FERRARI, G. P.; COSTA, S. M. G.; PERALTA, R. M. Antioxidant activity and total phenolic content of *Agaricus brasiliensis* (*Agaricus blazei* Murril) in two stages of maturity. **Food Chemistry**, v. 112, p. 775–781, 2009.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

SOCCOL, C. R., VANDENBERGHE, L. P. S. Overview of applied solid-state fermentation in Brazil. **Biochemical Engineering Journal**, v. 13, p. 205-218, 2003.

SONG, Z.; NES, W. D. Sterol Biosynthesis Inhibitors: Potential for Transition State Analogs and Mechanism-Based Inactivators Targeted at Sterol Methyltransferase. **Lipids**, v. 42, p. 15-33, 2007.

SOUZA, A. R. M.; SILVAM Y. P. A.; COSTA, N. V.; ALMEIDA, T. L.; ARTHUR, V.; LAGE, M. E.; ASQUIERI, E. R.; DAMIANI, C. Irradiação em barras de cereais incorporadas com casca de abacaxi. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 41, n. 4, p. 610-614, 2011.

SOUZA, W.; RODRIGUES, J. C. F. Sterol Biosynthesis Pathway as Target for Antitrypanosomatid Drugs. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, v. 2009, Article ID 642502, 19 pages, 2009.

SPEARS, J. W.; WEISS, W. P. Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows. **The Veterinary Journal**, v. 176, n. 1, p. 70-76, 2008.

SRIWATTANA, S.; LAOKULDILOK, N.; PRINYAWIWATKUL, W. Sensory Optimization of Broken-Rice Based Snacks Fortified with Protein and Fiber. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 6, p. 333-338, 2008.

STAMETS, P. Techniques for the cultivation of the medicinal mushroom Royal Sun *Agaricus blazei* Murrill (Agaricomycetidae). **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 2, p.151-160, 2000.

STEINBERG, D. M.; HUNTER, W. G. Experimental design: a review and comment. **Technometrics**, v. 26, n. 2, p. 71-97, 1984.

STIJVE, T.; AMAZONAS, M. A. L. A.; GILLER, V. Flavour and taste components of ss. Heinem. - A new gourmet and medicinal mushroom. **Deutsche Lebensmittel-Rundschau**, v. 98, n. 12, p. 448-453, 2002.

STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory Evaluation Practices**. London: Academic Press, 1985. 311 p.

STONE, H.; SIDEL, OLIVERS, S.; WOOLSEY, A.; SINGLETON, C. Sensory evaluation by descriptive analysis. **Food Technology**, v. 52, n. 2, p. 48-52, 1998.

SUDHA, M. L.; VETRIMANI, R.; LEELAVATHI, K. Influence of fiber from different cereals on the rheological characteristics of wheat flour dough and on biscuit quality. **Food Chemistry**, v. 100, n. 4, p. 1365-1370, 2007.

SUN-WATERHOUSE, TEOH, A.; MASSAROTTO, C.; WIBISONO, R.; WADHWA, S. Comparative analysis of fruit-based functional snack bars. **Food Chemistry**, v. 119, p. 1369–1379, 2010.

SUSSUMU, K.; KAZUHIRO, H. **Production of Yeast**. Patente: JP2000279164, 2010.

TAKAKU, T.; KIMURA, Y.; OKUDA, H. Isolation of an antitumor compound from *Agaricus blazei* Murril and its mechanism of action. **Journal of Nutrition**, v. 131, p. 1409-1413, 2001.

TAKEDA, Y.; TOGASHI, H.; SHINZAWA, H.; MIYANO, S.; ISHII, R.; TETSURU, K.; TAKEDA, Y.; SAITO, T.; SAITO, K.; HAGA, H.; MATSUO, T.; AOKI, M.; MITSUHASHI, H.; WATANABE, H.; TAKAHASHI, T. Spontaneous regression of hepatocellular carcinoma and review of literature. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 15, p. 1079-1086, 2000.

TAO, Y.; ZHANG, Y.; ZHANG, L. Chemical modification and antitumor activities of two polysaccharide-protein complexes from *Pleurotus tuber-regium*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 45, n. 2, p. 109-115, 2009.

TOMIZAWA, M. M.; DIAS, E. S.; ASSIS, L. J.; GOMIDE, P. H. O.; SANTOS, J. B. Variabilidade genética de isolados do cogumelo *Agaricus blazei* por meio de marcadores RAPD. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 4, p. 1242- 1249, 2007.

TUAN, Y. **Topofilia: um estudo da percepção, atitudes e valores do meio ambiente**. São Paulo: Difel, 1980, 75 p.

UNDERWOOD, E. J.; SUTTLE, N. F. **The Mineral Nutrition of Livestock**, 3 ed. Wallingford, Oxon, UK, CABI, 1999.

USDA – United States Department of Agriculture. **Wheat grain**. Disponível em < <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/> > Acesso em 30 jun 2012.

VALENCIA GARCIA, F. E.; ROMAN MORALES, M. O.; CARDONA SANCHEZ, D. P. El calcio en el desarrollo de alimentos funcionales. **Revista Lasallista de Investigación**, v. 8, n. 1, p. 104-116, 2011.

VANNUCCHI, H.; MARCHINI, J. S. **Nutrição e Metabolismo**: Nutrição Clínica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, v. 1. 2007, 482 p.

VANNUCCHI, H.; MOREIRA, E. A. M.; CUNHA, D. F.; JUNQUEIRA-FRANCO, M. V. M.; BERNARDES, M. M.; JORDÃO-JR, A. A. Role of nutrients on lipid peroxidation and antioxidant defense system. **Revista Medicina da Faculdade de Ribeirão Preto**, v. 31, p. 31-44, 1998.

VELLOSA, J. C. R.; BARBOSA, V. F.; OLIVEIRA, O. M. M. Pesquisa de produtos naturais: plantas e radicais livres. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 4, n. 2, p. 119-130, 2007.

VIARO, R. S.; VIARO, M. S.; FLECK, J. Importância bioquímica do selênio para o organismo humano. **Disciplinarum Scientia**. Série: Ciên. Biol. e da Saúde, Santa Maria, v. 2, n. 1, p. 17-21, 2001.

VILELA, P. S. **Cogumelos**: mercado e comercialização. Disponível em < <http://www.faemg.org.br/Content.aspx?Code=353&ParentPath=None;13&ContentVersion=C&ParentCode> > Acesso em 09 nov 2012.

VOSS, M.; THOMAS, R. W. S. P. Sorção de cobre e manganês por bactérias rizosféricas do trigo. **Ciência Rural**, v. 31, n. 6, p. 947-951, 2001.

WASSER, S. P. Current findings, future trends, and unsolved problems in studies of medicinal mushrooms. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 89, n. 5, p. 1323-32, 2011.

WASSER, S. P.; DIDUCK, M. Y.; AMAZONAS, M. A. L.; NEVO, E.; STAMETS, P.; EIRA, A. F. Is a widely cultivated culinary-medicinal Royal Sun *Agaricus* (the

Himematsutake Mushroom) indeed *Agaricus blazei* Murill? **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 4, p. 267-290, 2002.

WASSER, S. P.; WEIS, A. L. Medicinal properties of substances occurring in higher basidiomycetes mushrooms: Current perspectives (review). **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 1, p. 31-62, 1999.

WILSON, E. D.; SANTOS, A. C.; VIEIRA, E. C. Energia. IN: DUTRA-DE-OLIVEIRA, J. E.; SANTOS A. C.; WILSON, E. D. (editores). **Nutrição Básica**. São Paulo: Sarvier, 1982, p. 79-97.

YADAV, D.; MASSOD, N.; LUQMAN, S.; BRINDHA, P.; GUPTA, M. M. Antioxidant furofuran lignans from *Premna integrifolia*. **Industrial Crops and Products**, v. 41, p. 397– 402, 2013.

YANG, F. C.; LIAU, C. B. The influence of environmental conditions on polysaccharide formation by *Ganoderma lucidum* in submerged cultures. **Process Biochemistry**, v. 33, n. 5, p. 547-553, 1998.

YANG, L.; YAN, Q.; CAO, Y.; ZHANG, H. Determination of Mineral Elements of Some Coarse Grains by Microwave Digestion with Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry. **The Electronic Journal of Chemistry**, v. 9, n. 1, p. 93-98, 2012.

YEN, G. C.; LAI, H. H.; CHOU, H. Y. Nitric oxide scavenging and antioxidant effects of *Uraria crinita* root. **Food Chemistry**, v. 74, p. 471-478, 2001.

YIN, H.; WANG, Y.; WANG, Y.; CHEN, T.; TANG, H.; WANG, M. Purification, characterization and immuno-modulating properties of polysaccharides isolated from *Flammulina velutipes* mycelium. **American Journal of Chinese Medicine**, v. 38, n. 1, p. 191-204, 2010.

ZHANG, Z.; LV, G.; PAN, H.; FAN, L.; SOCCOL, C. R.; PANDEY, A. Antioxidants from Wheat Fermented by *C. militaris*, **Food Technology and Biotechnology**, v. 50, n. 1, p. 32–39, 2012.

ZHAO, L.; ZHAO, G.; ZHAO, Z.; CHEN, P.; TONG, J.; HU, X. Selenium distribution in a Se-enriched mushroom species of the genus *Ganoderma*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 3954–3959, 2004.

ZOU, X. Effects of Zn supplementation on the growth, amino acid composition, polysaccharide yields and anti-tumor activity of *Agaricus brasiliensis*. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 21, p. 261-264, 2005.

ZOU, X. Fed-batch fermentation for hyperproduction of polysaccharide and ergosterol by medicinal mushroom *Agaricus brasiliensis*. **Process Biochemistry**, v. 41, p. 970–974, 2006.

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO OESTE- UNICENTRO
 Campus CEDETEG
 SETOR DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA- SEET/G
 DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS-DEALI
 COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA- COMEP/UNICENTRO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, **Katielle Rosalva Vonicik Córdova**, professora do Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual do Centro Oeste - UNICENTRO, venho convidá-lo a participar da pesquisa que pretendo realizar sobre *“PRODUÇÃO DE BIOFARINHA DE Agaricus brasiliensis, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO EM PRODUTOS DE PANIFICAÇÃO”*.

O objetivo geral dessa pesquisa é desenvolver biscoitos e barras de cereal utilizando farinha de micélio de cogumelo *Agaricus brasiliensis*, obtido por cultivo sólido em trigo integral, com a finalidade de auxiliar na regulação de colesterol e glicemia elevados. Este micélio é produzido em meio ou caldo com nutrientes adequados em um processo denominado de cultivo submerso, ou seja, o cogumelo se desenvolve em meio líquido e não no solo e posteriormente faz-se a semeadura em trigo integral, onde se dá o cultivo sólido. Os produtos elaborados serão então analisados sensorialmente, ou seja, você irá provar algumas amostras, contendo 10 gramas do biscoito e/ou barra de cereal que lhe será apresentado, que consiste em verificar a cor, e o odor (cheiro) e com pequenas mordidas também o sabor e a textura dos produtos. Em seguida irá responder algumas perguntas sobre as características dos produtos em uma ficha própria que você receberá. Este estudo seguirá os preceitos éticos da resolução 196/96 do Ministério da Saúde, que contém diretrizes e normas para a pesquisa com seres humanos. É importante salientar que o produto é seguro, que não trará riscos a saúde e nem causará efeitos colaterais. Caso ocorram efeitos indesejáveis encaminharemos para a unidade de saúde mais próxima.

Informo que é de livre escolha a participação neste estudo, e que, mesmo tendo concordado em participar, pode se recusar a responder perguntas ou mesmo retirar seu consentimento e desistir da participação, a qualquer momento, sem nenhum prejuízo. Comprometo-me a não revelar seu nome. As informações serão apresentadas no trabalho sem que haja a possibilidade de você ser identificado. Os resultados deste estudo servirão como subsídio para a elaboração de trabalhos científicos.

Ao concordar com a participação no estudo, por favor, assine abaixo.

Participante: _____

RG: _____

Código de identificação: _____

Guarapuava-PR, _____ de _____ de 2012.

 Profª Ms. Katielle Rosalva Vonicik Córdova

Katielle Rosalva Vonicik Córdova

Professora do Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual do Centro Oeste.
 Rua Simeão Camargo Varela de Sá, nº03, Guarapuava-PR, CEP 85040-180

APÊNDICE B – FICHA DE ANÁLISE SENSORIAL – 1ª ETAPA

AVALIAÇÃO SENSORIAL DE BARRAS DE CEREAIS COM ADIÇÃO DE *Agaricus brasiliensis* E MINERAIS

Nome: _____ Idade: _____ Data: __/__/__

TESTE DE PREFERÊNCIA

Você está recebendo amostras de barras de cereais. Avalie cada uma das amostras codificadas e use a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou de cada uma das amostras.

	AMOSTRA	NOTA
9 – gostei muitíssimo		
8 – gostei muito		
7 – gostei moderadamente		
6 – gostei ligeiramente	_____	_____
5 – nem gostei/nem desgostei	_____	_____
4 – desgostei ligeiramente	_____	_____
3 – desgostei moderadamente	_____	_____
2 – desgostei muito		
1 – desgostei muitíssimo		

PERFIL DE ATRIBUTOS

Avalie as amostras que você recebeu com relação aos atributos a seguir, sendo escores de nota de 1 a 9, onde “1” para “péssimo” e “9” para “excelente”:

ATRIBUTOS	AMOSTRAS			
	Nº _____ NOTA	Nº _____ NOTA	Nº _____ NOTA	Nº _____ NOTA
Cor				
Aroma				
Sabor doce				
Sabor residual				
Textura				
Aparência				

TESTE DE ATITUDE

Considerando as notas atribuídas as amostras analisadas, qual delas amostras você consideraria adquirir/comprar? _____

APÊNDICE C – FICHA DE ANÁLISE SENSORIAL – 2ª ETAPA

AVALIAÇÃO SENSORIAL DE BARRAS DE CEREAIS COM ADIÇÃO DE *Agaricus brasiliensis* E MINERAIS

Nome: _____ Idade: _____ Data: __/__/__

ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA - ADQ

Prove e avalie cuidadosamente a amostra de barra de cereais que está recebendo, e marque com um traço a intensidade percebida do atributo.

AMOSTRA Nº _____

BRILHO	-----
	Nenhum Muito
intenso	
COMPACTAÇÃO	-----
	Nenhum Muito
intenso	
AROMA DE COCO	-----
	Nenhum Muito
intenso	
SABOR DOCE	-----
	Nenhum Muito
intenso	
SABOR RESIDUAL FERMENTADO	-----
	Nenhum Muito
intenso	
TEXTURA	-----
	Nenhum Muito
intenso	
CROCÂNCIA	-----
	Nenhum Muito
intenso	

MASTIGABILIDADE: Nº de mastigações (1/segundo) para deglutir a amostra (2 cm³): _____

ANEXO A – PARECER COMITÊ DE ÉTICA



Universidade Estadual do Centro-Oeste

Reconhecida pelo Decreto Estadual nº 3.444, de 8 de agosto de 1997

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COMEP/UNICENTRO/G

Ofício nº 094/2011 - COMEP/UNICENTRO/G

Guarapuava, 23 de Março de 2011.

Senhora Professora,

1. Comunicamos que o projeto de pesquisa intitulado: "Produção de Biofarinha de Agararicos brasiliensis, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO EM PRODUTOS DE PANIFICAÇÃO" folha de rosto nº 397279, parecer 002/2011 foi analisado e considerado **APROVADO** pelo Comitê de Ética em Pesquisa de nossa Instituição em Reunião Extraordinária no dia 22 de Março de 2011.
2. Em atendimento à Resolução 196/96 do CNS, deverá ser encaminhado ao COMEP o relatório final da pesquisa e a publicação de seus resultados, para acompanhamento do mesmo.
3. Observamos ainda que se mantenha a devida atenção aos Relatórios Parciais e Finais na seguinte ordem:
 - Os *Relatórios Parciais* deverão ser encaminhados ao COMEP assim que tenha transcorrido um ano da pesquisa.
 - Os *Relatórios Finais* deverão ser encaminhados ao COMEP em até 30 dias após a conclusão da pesquisa.
 - Qualquer alteração na pesquisa que foi aprovada, como por exemplo, números de sujeitos, local, período, etc. deverá ser necessariamente enviada uma carta justificativa para a análise do COMEP.

Pesquisadora: Katielle Rosalva Voncik Córdova

Atenciosamente,

Prof. Sueli Godoi

Coordenadora do COMEP/UNICENTRO/G

Port. Nº 2.053/2010 – GR/UNICENTRO

À Senhora
 Prof. Katielle Rosalva Voncik Córdova
 Departamento de Engenharia de Alimentos - DEALI
 UNICENTRO

Home Page: <http://www.unicentro.br>

Campus Santa Cruz: Rua Pres. Zacarias 875 – Cx. Postal 3010 – Fone: (42) 3621-1000 – FAX: (42) 3621-1090 – CEP 85.015-430 – GUARAPUAVA – PR